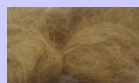
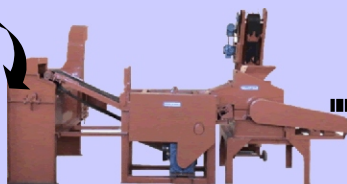
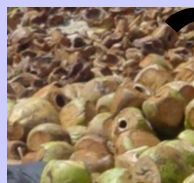


## **Tratamento Biológico do Líquido da Casca do Coco-Verde**



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Agroindústria Tropical  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

# ***Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento*** 39

— *on line*

## **Tratamento Biológico do Líquido da Casca do Coco-Verde**

*Renato Carrhá Leitão  
Alex Miranda de Araújo  
Othávio Luís de Sousa  
Mário de Alencar Freitas-Neto  
Michael Barbosa Viana  
Cristiano Régis Freitas de Brito  
Augusto Brito de Sousa  
Morsyleide de Freitas Rosa  
Gustavo Adolfo Saavedra Pinto  
Sandra Tédde Santaella*

Embrapa Agroindústria Tropical  
Fortaleza, CE  
2010

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Agroindústria Tropical**

Rua Dra. Sara Mesquita 2270, Pici

CEP 60511-110 Fortaleza, CE

Caixa Postal 3761

Fone: (85) 3391-7100

Fax: (85) 3391-7109

Home page: [www.cnpat.embrapa.br](http://www.cnpat.embrapa.br)

E-mail: [vendas@cnpat.embrapa.br](mailto:vendas@cnpat.embrapa.br)

**Comitê de Publicações da Embrapa Agroindústria Tropical**

Presidente: *Antonio Teixeira Cavalcanti Júnior*

Secretário-Executivo: *Marco Aurélio da Rocha Melo*

Membros: *Diva Correia, Marlon Vagner Valentim Martins, Arthur  
Cláudio Rodrigues de Souza, Ana Cristina Portugal Pinto  
de Carvalho, Adriano Lincoln Albuquerque Mattos e  
Carlos Farley Herbster Moura*

Supervisor editorial: *Marco Aurélio da Rocha Melo*

Revisão de texto: *Lucas Almeida Carneiro*

Normalização bibliográfica: *Rita de Cassia Costa Cid*

Foto da capa: *Diva Correia*

Editoração eletrônica: *Arilo Nobre de Oliveira*

**1ª edição**

1ª impressão (2010): *on line*

**Todos os direitos reservados**

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

**Embrapa Agroindústria Tropical**

---

Tratamento biológico do líquido da casca do coco-verde / Renato Carrhá Leitão... [et al.]. – Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2010.

123 p.; on line. – (Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa Agroindústria Tropical, ISSN 1679-6543; 39).

1. Efluente agroindustrial. 2. Esgoto - Estação de tratamento. 3. LCCV. 4. UASB. 5. Sistema de iodos ativados. 6. Reator biológico com fungos. I. II. III. IV. V.VI.VII. VIII. IX. X. XI. Série.

---

CDD 363.7284

© Embrapa 2010

# Sumário

|  |    |
|--|----|
| Resumo .....   | 5  |
| Abstract.....  | 7  |
| Introdução.....  | 9  |
| Caracterização do problema .....   | 9  |
| Viabilidade do tratamento biológico do líquido da casca<br>do coco-verde ..... | 10 |
| Taninos .....  | 10 |
| Tratamento anaeróbio do LCCV .....   | 13 |
| Tratamento do LCCV por meio de bactérias aeróbias.....                         | 21 |
| Tratamento do LCCV por meio de fungos .....                                    | 24 |
| Codigestão .....   | 34 |
| Objetivos .....  | 35 |
| Gerais .....   | 35 |
| Específicos .....  | 35 |
| Material e Métodos.....  | 36 |
| Origem e produção da água residuária (LCCV) .....                              | 36 |
| Reator anaeróbio de fluxo ascendente e leito de lodo.....                      | 38 |
| Sistema de lodos ativados.....   | 47 |
| Reator biológico com fungos .....  | 57 |

|   |     |
|---|-----|
| Resultados e Discussão.....                           | 65  |
| Caracterização do LCCV .....                          | 65  |
| Reator UASB.....                                      | 67  |
| Sistema de lodos ativados.....                        | 83  |
| Reator biológico com fungos .....                     | 95  |
| Considerações finais sobre o tratamento do LCCV ..... | 105 |
| Conclusões.....                                       | 107 |
| Referências .....                                     | 108 |

# Tratamento Biológico do Líquido da Casca do Coco-Verde

---

*Renato Carrhá Leitão*  
*Alex Miranda de Araújo*  
*Othávio Luís de Sousa*  
*Mário de Alencar Freitas-Neto*  
*Michael Barbosa Viana*  
*Cristiano Régis Freitas de Brito*  
*Augusto Brito de Sousa*  
*Morsyleide de Freitas Rosa*  
*Gustavo Adolfo Saavedra Pinto*  
*Sandra Tédde Santaella*

## Resumo

Em uma unidade de processamento da casca do coco-verde instalada em Fortaleza, com recursos de um projeto da Embrapa Agroindústria Tropical, são gerados cerca de 15 m<sup>3</sup>/dia de um efluente denominado de Líquido da Casca do Coco-Verde (LCCV), cuja demanda química de oxigênio (DQO) é, aproximadamente, 60 g/L. Para avaliar a melhor forma de tratar esse líquido, foram realizados testes de toxicidade anaeróbia, aeróbia e fúngica, para determinação da capacidade de degradação de cada tipo de reator; e operação de reatores em escala

---

<sup>1</sup>Engenheiro-agrônomo, D. Sc. em Fitotecnia, analista da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, teixeira@cnpat.embrapa.br

<sup>2</sup>Bióloga, D. Sc. em Ciências Florestais, pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE.

<sup>3</sup>Engenheiro-agrônomo, M. Sc. em Fitotecnia – hokumura@pop.com.br;

<sup>4</sup>Engenheiro-agrônomo, Ph. D., pesquisador professor titular do Departamento de Agronomia, UFC.

<sup>1</sup>Engenheiro-agrônomo, D. Sc. em Fitotecnia, analista da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, teixeira@cnpat.embrapa.br

<sup>2</sup>Bióloga, D. Sc. em Ciências Florestais, pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE.

<sup>3</sup>Engenheiro-agrônomo, M. Sc. em Fitotecnia – hokumura@pop.com.br;

<sup>4</sup>Engenheiro-agrônomo, Ph. D., pesquisador professor titular do Departamento de Agronomia, UFC.

<sup>1</sup>Engenheiro-agrônomo, D. Sc. em Fitotecnia, analista da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, teixeira@cnpat.embrapa.br

<sup>2</sup>Bióloga, D. Sc. em Ciências Florestais, pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE.

de laboratório (reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo – UASB, reator biológico com fungos - RBF e sistema de lodos ativados – SLA). Os resultados mostraram que o LCCV inibe o metabolismo do *Aspergillus niger* e que as leveduras existentes no próprio meio promoveram degradação da matéria orgânica facilmente biodegradável. Durante os testes de atividade anaeróbia, verificou-se que não houve inibição da atividade metanogênica. Os testes de taxa de consumo de oxigênio mostraram que não houve inibição do metabolismo das bactérias aeróbias. O reator UASB apresentou a melhor operacionalidade para tratamento do LCCV, porém não removeu toda a matéria orgânica (atingiu 80%), necessitando de um pós-tratamento. O RBF removeu mais de 90% da matéria orgânica do LCCV, porém, devido a problemas operacionais, não é o sistema mais adequado (talvez uma modificação do sistema de biodiscos, usando leveduras como inóculo, seja uma boa solução). O sistema de lodos ativados apresentou desempenho ruim quando foi operado com LCCV bruto, mas há indícios que um sistema combinado UASB-SLA seja eficiente. O pós-tratamento, por meio de um reator com fungos (sistema de biodiscos), pode viabilizar a recuperação de taninos.

Termos para indexação: Efluentes agroindustriais, estação de tratamento de esgotos, LCCV, UASB, sistema de lodos ativados, reator biológico com fungos.

# Biological Treatment of the Coconut Husk Liquor

---

## Abstract

The green coconut husk processing pilot plant, installed in Fortaleza with funds from a project Embrapa, generate about 15 m<sup>3</sup>/day of an effluent called Coconut Husk Liquor (CHL), whose chemical oxygen demand (COD) is approximately 60 g/L. To evaluate what is the best treatment process for this kind of fluid, tests were carried out based on toxicity tests (anaerobic, aerobic and fungal) to determine the ability of degradation of each type of reactor; and operation of laboratory scale reactors (upflow anaerobic sludge blanket - UASB, Fungi Reactor - FR and Activated Sludge System - ASS). The results showed that CHL causes inhibition in the metabolism of *Aspergillus niger* and the yeasts that exist within the medium promoted the degradation of easily degradable organic matter. During anaerobic activity tests, it seems that there was no inhibition of the methanogenic activity. The tests for Oxygen Uptake Rate showed no inhibition of metabolism of aerobic bacteria. The UASB reactor showed the highest robustness for the treatment of CHL, but it does not promote the complete removal of organic matter (up to 80%), requiring a post-treatment. The FR can remove more than 90% of organic matter CHL, but there are serious operational problems, indicating that the system used in this research is not the most appropriate (perhaps a modification of the biodisk system, using yeast as inoculum is a good solution). The activated sludge had a



poor performance when operated with raw CHL, but there is evidence that a combined UASB-ASS is the most efficient. Moreover, the post-treatment through a reactor with fungi (biodisk system) may allow the recovery of tannins.

Index terms: Agroindustrial effluents, wastewater treatment plant, CHL, UASB, activated sludge system, fungi filter.

## Introdução

### Caracterização do problema

O agronegócio do coco-verde, que apresenta crescimento estimado em 20% ao ano, possui como um de seus principais problemas ambientais a geração de resíduos sólidos. Estima-se que cerca de dois milhões de toneladas anuais de cascas são geradas em decorrência do consumo de água-de-coco-verde no Brasil. Esse problema se agrava, principalmente nos grandes centros urbanos e cidades litorâneas, onde o material é de difícil descarte, sendo enviado para lixões e aterros sanitários, comprometendo sua vida útil, proliferando focos de vetores transmissores de doenças, causando mau cheiro e possível contaminação do solo e dos corpos d'água, além da inevitável destruição da paisagem urbana.

Buscando soluções tecnológicas para o aproveitamento integral da casca de coco-verde, a Embrapa Agroindústria Tropical desenvolveu uma tecnologia para processamento da casca, consistindo de uma sequência de operações desde a trituração, que fragmenta a parte fibrosa do coco, passando pela prensagem, que extrai o excesso de líquido do produto triturado até a classificação, que separa as frações em pó e fibras. Esse procedimento tornou-se uma inovação tecnológica capaz de agregar valor à cadeia produtiva do coco-verde e reduzir os impactos ambientais negativos provocados pela disposição inadequada do resíduo. Como resultado, em 2005, foi implantada uma unidade piloto no bairro do Jangurussu em Fortaleza, CE.

Durante o processamento da casca é gerado um efluente, denominado Líquido da Casca do Coco-Verde (LCCV), que necessita de tratamento. A unidade piloto de beneficiamento da casca do coco-verde no bairro do Jangurussu, em Fortaleza, foi projetada para processar trinta toneladas de cascas por dia, gerando cerca de 15 m<sup>3</sup>/dia desse efluente, podendo chegar a 20 m<sup>3</sup>/dia em períodos de maior produção.

Análises preliminares do LCCV, efetuadas no Laboratório de Saneamento da Universidade Federal do Ceará, indicaram valores

elevados de concentração de matéria orgânica, o que torna o uso do tratamento biológico uma opção bastante atraente.

## **Viabilidade do tratamento biológico do líquido da casca de coco-verde**

A caracterização do LCCV indicou valores elevados de concentração de matéria orgânica (60 a 70 g DQO/L), taninos (6 g/L) e salinidade (condutividade elétrica de 8,8 mS/cm), conforme apresentado no capítulo de resultados e discussão deste trabalho. Apesar da elevada concentração de matéria orgânica, bastante interessante do ponto de vista da degradação biológica, o maior problema enfrentado foi o elevado teor de taninos condensados, que pode ser inibidor dos microrganismos envolvidos no processo de degradação (BRÍGIDA; ROSA, 2003). Esse tipo de tanino é o mais resistente ao ataque microbiano e é tóxico para vários tipos de organismos (BHAT et al., 1998; SCALBERT, 1991).

Apesar das propriedades antimicrobianas dos taninos, muitos fungos, bactérias e leveduras conseguem crescer e se desenvolver em meios contendo esses compostos. Além disso, estudos mostraram ser viáveis as degradações anaeróbia, aeróbia e fúngica desses compostos (BHAT et al., 1998; LÓPEZ-FIUZA et al., 2003).

## **Taninos**

Os taninos são polifenóis naturais solúveis em água e se diferenciam da maioria dos compostos fenólicos naturais pela habilidade de precipitar proteínas (SCALBERT, 1991; BHAT et al., 1998; NOZELLA, 2001; QUEIROZ et al., 2002), além de gelatinas e alcaloides (MONTEIRO et al., 2005).

Esses compostos polifenólicos provêm do metabolismo secundário das plantas, apresentam peso molecular variando de 500 a 3.000 Dalton (NOZELLA, 2001), sendo, também, a causa do sabor adstringente de frutas verdes e produtos vegetais como vinhos tintos e chás (QUEIROZ et al., 2002; XIE; DIXON, 2005). Isso ocorre devido à precipitação de glicoproteínas presentes na saliva (NOZELLA, 2001; MONTEIRO et al., 2005), podendo aumentar a salivação e diminuir a aceitabilidade do alimento.

Os taninos estão presentes em folhas de árvores, subprodutos da agroindústria e resíduos da agricultura e são o segundo grupo de compostos fenólicos mais encontrados nas plantas, ficando atrás apenas das ligninas (BHAT et al., 1998; QUEIROZ et al., 2002).

Com relação à capacidade dos taninos de se ligarem com proteínas, a força e a natureza dessas ligações dependem da natureza química dos grupos fenólicos reativos (BHAT et al., 1998).

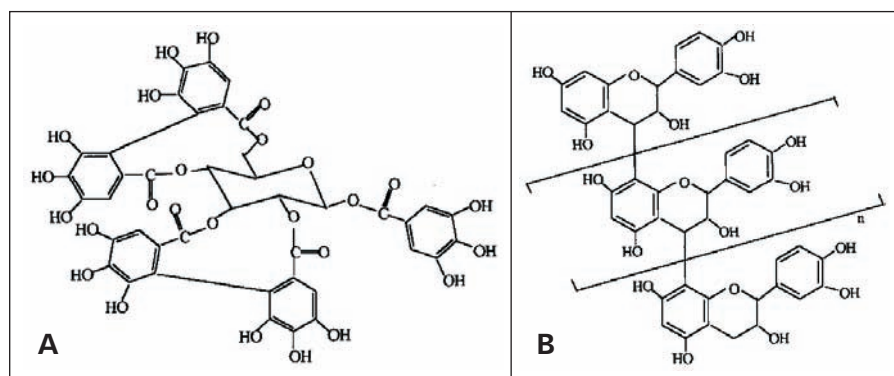
Bhat et al. (1998) afirmam ainda que os taninos são conhecidos por inibirem o crescimento microbiano e serem recalcitrantes. Segundo Scalbert (1991), as causas da atividade antimicrobiana devido ao tanino são: inativação de enzimas extracelulares, privação de substratos necessários ao crescimento microbiano (complexação com íons metálicos) e interferência direta no metabolismo mediante a inibição da fosforilação oxidativa. Durante a precipitação de proteínas, os taninos causam efeito antimicrobiano (MONTEIRO et al., 2005). Dentre estas proteínas, estão as enzimas que têm sua atividade inibida (NOZELLA, 2001), com exceção da tanase. Devido a essas propriedades, os taninos servem como meio de defesa de plantas contra fungos, bactérias, vírus e ataque de insetos e herbívoros (SCALBERT, 1991; NOZELLA, 2001; QUEIROZ et al., 2002; XIE; DIXON, 2005).

Apesar das propriedades antimicrobianas, muitos fungos (*Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Fusarium solani*), bactérias (*Bacillus polymyxa*, *Corynebacterium* sp., *Klebsiella planticola*) e leveduras (*Candida* sp.) são resistentes e conseguem crescer e se desenvolver em ambientes ricos em taninos (SCALBERT, 1991; BHAT et al., 1998). Aparentemente, as leveduras são mais resistentes que os fungos filamentosos e, em geral, as bactérias são menos resistentes que fungos filamentosos e leveduras (SCALBERT, 1991). Dentre os mecanismos de adaptação dos microrganismos estão a secreção de polímeros com alta afinidade por taninos e a presença de algumas enzimas (tanase, por exemplo) que mantêm atividade total mesmo para concentrações elevadas de taninos.

Existem dois grupos majoritários de taninos: hidrolisáveis (Figura 1A) e condensados ou condensáveis (Figura 1B).

Alguns estudos, nos quais se compara a toxicidade causada por taninos hidrolisáveis e a causada por condensáveis, empregando fungos filamentosos e bactérias, não mostraram diferença significativa (SCALBERT, 1991), contrariando os resultados de Bhat et al. (1998) e López-Fiúza et al. (2003).

Os taninos se complexam facilmente a íons metálicos, podendo prejudicar a biodisponibilidade desses íons (MONTEIRO et al., 2005; NOZELLA, 2001). Essa interação causa efeitos antinutricionais, já que o tanino deixa indisponíveis biologicamente alguns tipos de nutrientes. Uma solução para o problema é a utilização de polímeros sintéticos – como polietileno glicol (PEG) – que possuem alta afinidade por taninos, permitindo a utilização mais eficiente de proteínas e outros compostos (NOZELLA, 2001).



**Figura 1.** Estrutura química do elagitanino (A) e da procianidina (B). Fonte: Bhat et al. (1998).

## Tratamento anaeróbio do LCCV

Como o LCCV apresenta concentrações elevadas de matéria orgânica (entre 60 e 70 g DQO/L), o processo de tratamento biológico anaeróbio é uma das alternativas de tratamento por apresentar vantagens potenciais (baixa produção de lodo, menor consumo de energia) em comparação ao tratamento aeróbio. O sistema anaeróbio proposto para tratamento do LCCV foi o reator de fluxo ascendente com manta de lodo (RAFA), em inglês UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*), originalmente desenvolvido por Lettinga et al. (1980). UASB será a denominação utilizada ao longo do texto.

Trabalhos desenvolvidos por diversos pesquisadores (MINGSHU et al., 2006; LÓPEZ-FIUZA et al., 2003; FRIGON et al., 2003; AQUINO; STUCKEY, 2002; VIJAYARAGHAVAN; MURTHY, 1997; VIJAYARAGHAVAN; RAMANUJAM, 1999) demonstraram a capacidade de remoção de DQO em diversos sistemas anaeróbios tratando efluentes com taninos.

## Microbiologia e bioquímica da digestão anaeróbia

A digestão anaeróbia é um processo complexo, envolvendo um consórcio de microrganismos que atuam de forma simbiótica em que o produto de um grupo é substrato de outro. As reações bioquímicas principais que ocorrem no processo caracterizam os grupos de microrganismos predominantes, podendo esse processo ser dividido em três etapas: hidrólise e acidogênese, acetogênese e metanogênese, conforme descreve Metcalf e Eddy (2003).

O processo de degradação da matéria orgânica inicia-se com a hidrólise do material presente no efluente gerando compostos mais simples, que possam ser assimilados pelos microrganismos. Normalmente os polímeros complexos são transformados em açúcares, ácidos orgânicos e aminoácidos. Essa conversão é executada por enzimas extracelulares que são excretadas pelas bactérias fermentativas hidrofílicas. De acordo com Lettinga (1980), na degradação de muitos compostos poliméricos há possibilidade de a etapa hidrolítica ser mais lenta que as demais etapas, sendo esta a limitante do processo.

Na acetogênese, os produtos formados anteriormente são oxidados a acetato, hidrogênio e gás carbônico, com o objetivo de fornecer substrato apropriado aos microrganismos metanogênicos. De todos os produtos originados por esses microrganismos somente o acetato e o hidrogênio podem ser assimilados pelas bactérias metanogênicas. De acordo com as pesquisas realizadas por Breure; van Andel (1984), a distribuição dos ácidos orgânicos voláteis dependerá principalmente da natureza do substrato e das condições às quais os microrganismos estão sendo expostos. Com isso, a etapa de acetogênese pode ser mais ou menos intensa no processo de degradação do substrato.

O processo de degradação do substrato é finalizado na metanogênese, que consiste na transformação dos produtos (com um ou dois átomos) formados anteriormente em metano e dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ). O metano é formado por dois mecanismos distintos, conforme descreve Speece (1995). O primeiro consiste da formação do metano a partir do  $\text{CO}_2$  e gás hidrogênio ( $\text{H}_2$ ), pelo grupo de arqueas hidrogenotróficas. O segundo consiste da produção do metano a partir do acetato, realizada pelo grupo de arqueas acetoclásticas.

Em termos de vias metabólicas anaeróbias, considerando os produtos de fácil fermentação (resíduos ricos em ácidos graxos e monômeros de açúcar), a etapa limitante no processo fermentativo é, geralmente, a metanogênica. Por outro lado, durante a digestão anaeróbia de resíduos mais complexos (da agricultura, celuloses e alguns lipídios e proteínas), a etapa limitante do processo é, geralmente, a hidrólise visto que, constituintes poliméricos se dividem em fragmentos menores ou em monômeros (SOTO et al., 1993).

### **Vias metabólicas anaeróbias de degradação dos taninos**

Os taninos hidrolisáveis podem ser biodegradados, em sistemas anaeróbios, por meio da transformação de ácido gálico em pirogallol, que pode ser convertido em ácido pirúvico ou em floroglucinol, o qual é transformado em acetato e butirato, que finalmente é convertido em metano, em condições anaeróbias (AQUINO et al., 2002).

Já os taninos condensáveis (catequinas), em ambientes anaeróbios, após sofrerem cisão em seus anéis superiores, são convertidos em acetato que, em seguida, é assimilado pelas bactérias metanogênicas. Outra via é a metabolização das quercetinas (unidade básica de taninos condensados) que são inicialmente quebradas em floroglucinol e derivados de fenil acetato. O floroglucinol é rapidamente fermentado, em vários sistemas anaeróbios, sendo convertido em acetato e butirato (MINGSHU et al., 2006).

### **Atividade metanogênica específica**

Segundo Guerrero et al. (1996), o teste de Atividade Metanogênica Específica (AME) é usado para analisar o comportamento da biomassa e avaliar a capacidade das arqueas metanogênicas em converter substrato orgânico em metano e gás carbônico. Sendo assim, a partir de quantidades conhecidas de biomassa (em termos de sólidos voláteis totais – SVT) e de substrato (em termos de DQO), sob condições pré-estabelecidas, verifica-se a produção de metano ao longo do período de teste. A AME é então calculada pelas taxas de produção de metano.

No teste de AME, é adicionado lodo em quantidade suficiente para evitar que a degradação do efluente seja limitada pela falta de biomassa. Recomenda-se usar uma concentração de lodo de 5 g SSV/L, porém, se a atividade metanogênica do lodo for maior do que 0,2 kg DQO/kg SSV.d, é possível utilizar concentrações menores. A formação de ácidos graxos voláteis (AGV) durante o teste pode causar acumulação de ácidos não neutralizados dentro do reator. Para evitar decréscimo do pH, deve-se assegurar que o efluente contenha uma alcalinidade mínima de 0,5 g  $\text{NaHCO}_3$ /g DQO. Caso contrário, deve-se adicionar um agente tampão (VIDAL; DIEZ, 2005).

O teste de atividade metanogênica serve para estabelecer o grau de biodegradabilidade de um efluente, com base na atividade já determinada de um lodo. Esse teste consiste em incubar certa quantidade de biomassa, em meio contendo o efluente a ser testado, nutrientes e solução tampão, medindo-se a quantidade de gás produzido por unidade de tempo e massa bacteriana (POERSCH; KOETZ, 1998).



Para que se obtenha a atividade metanogênica máxima, deve-se garantir que o ambiente permaneça anaeróbio e que contenha condições ótimas de temperatura, pH, potencial redox e nutrientes. Deve-se ainda selecionar populações adequadas de microrganismos e adicionar substrato suficiente. É necessário equipamento capaz de monitorar as mudanças da atividade metabólica, por meio da produção de gás ou do consumo do substrato, com precisão satisfatória (MORENO et al., 1999).

Outro aspecto que deve ser abordado é o uso de grandes concentrações de microrganismos, fato que, provavelmente, provocará o consumo do alimento disponível em curto espaço de tempo, reduzindo o crescimento de novas bactérias durante o teste. Além disso, o uso de quantidade excessiva de biomassa pode causar decréscimo na atividade máxima, devido a limitações na transferência de massa do substrato metanogênico aos microrganismos. Da mesma forma, concentrações insuficientes, isto é, abaixo do nível de saturação requerido pelos microrganismos, podem reduzir a atividade metanogênica. Deve-se também explicar que concentrações excessivas de ácido acético podem inibir a atividade das bactérias metanogênicas (BIRCH et al., 1989).

### **Teste de toxicidade anaeróbia**

O teste de toxicidade anaeróbia é semelhante ao teste de AME, modificando-se apenas o substrato utilizado. Para o teste de toxicidade, utilizam-se diversas concentrações do substrato tóxico que se quer testar em substituição aos ácidos graxos voláteis (AGV) utilizados no teste de AME.

Vidal e Diez (2005) estudaram a toxicidade metanogênica de efluentes de indústrias alimentícias. Uma solução neutra estoque de AGV foi utilizada, com concentração final de 2,0; 0,5; 0,5 g/L de ácido acético, propiônico e butírico, respectivamente, resultando em 3,8 g DQO/L. As concentrações médias do efluente foram: para 1ª carga: 18,8 e 1,3 g/L de DQO e taninos, respectivamente; 2ª carga: 0,98 e 0,2 g/L de DQO e taninos, respectivamente; 3ª carga: 1,2 e 0,01 g/L de DQO e taninos, respectivamente. Com os resultados obtidos, Vidal e Diez (2005)

demonstraram que houve inibição na atividade metanogênica nas três fases do experimento.

### **Toxicidade anaeróbia devida a taninos**

A adequada degradação dos poluentes orgânicos por qualquer processo biológico depende da manutenção de um ambiente favorável para os microrganismos, incluindo o controle ou a eliminação de constituintes tóxicos.

Segundo Cherchinaro (1997), a toxicidade tem sido considerada um dos principais empecilhos para a aplicação de processos anaeróbios, pois as arqueas metanogênicas são sensíveis e vulneráveis a diversos produtos recalcitrantes. Contudo, Speece (1995) afirmou que microrganismos podem ser capazes de metabolizar compostos como clorofórmio e tricloro-etano, desde que seja usada uma metodologia apropriada, na qual o aumento da concentração do composto tóxico seja realizado vagarosamente e com a prevenção de perda de biomassa do sistema. Ainda, de acordo com Metcalf e Eddy (2003), muitos compostos orgânicos tóxicos e recalcitrantes são degradados em sistemas anaeróbios, servindo como substrato para fermentação e produção de metano. Exemplos típicos são os compostos alifáticos e aromáticos não halogenados, como fenóis e tolueno.

Segundo Field et al. (1988), a capacidade de formar compostos insolúveis é a principal característica dos taninos, o que resulta em efeitos tóxicos aos microrganismos anaeróbios metanogênicos. A degradação anaeróbia de galotaninos, por meio de lodos anaeróbios, foi inicialmente citada por Field e Lettinga (1987). Esses autores observaram que, embora os galotaninos sejam rapidamente biodegradáveis em concentrações menores que 700 mg/L, são potencialmente tóxicos para as bactérias metanogênicas. Por outro lado, outros pesquisadores (LÓPEZ-FIUZA et al., 2003; AQUINO et al., 2002; MINGSHU et al., 2006; VIJAYARAGHAVAN; RAMANUJAM, 1999; VIJAYARAGHAVAN; MURTHY, 1997) demonstraram a possibilidade de degradação anaeróbia de taninos.

Klinkow et al. (1998) avaliaram a toxicidade dos compostos orgânicos, incluindo taninos condensáveis, presentes no efluente de curtume, antes e após o tratamento anaeróbio. Esses autores verificaram que em determinadas faixas de peso molecular a toxicidade desses compostos pode dobrar após o tratamento anaeróbio. Segundo os autores, esse fato pode ser atribuído à presença de compostos não biodegradáveis ou à formação de compostos gerados de sua degradação parcial durante o processo anaeróbio.

López-Fiuza et al. (2003) operaram reatores UASB em escala de bancada para verificar a viabilidade de degradação anaeróbia de extratos naturais de taninos e verificaram que concentrações de taninos condensáveis no afluente próximas de 800 mg/L inibiram a atividade metanogênica dos reatores.

Nelson et al. (1997) investigaram os efeitos de taninos no crescimento bacteriano. As bactérias *Streptococcus bovis* e *F. succinogenes* foram as mais afetadas pelos taninos, enquanto que as *Prevotella ruminicola* e *R. albus* demonstraram maior nível de tolerância. Os autores concluíram que os taninos em concentração superior a 200 µg/mL afeta o metabolismo de remoção da glicose.

Uma solução para o tratamento estável e eficiente de efluentes contendo elevada toxicidade seria operar o sistema com elevado tempo de retenção celular (TRC). Outra solução seria promover uma adaptação adequada da biomassa, resultando em um sistema capaz de suportar concentrações de certos tóxicos até dez vezes maiores que aquelas suportadas por lodos não adaptados (SPEECE, 1995).

## **Sistemas de tratamento anaeróbio**

A utilização de processos anaeróbios para o tratamento de efluentes era considerada até recentemente antieconômica e problemática. Isto ocorria devido à reduzida velocidade de crescimento da biomassa anaeróbia, principalmente das bactérias metanogênicas, fazendo com que o processo fosse de difícil controle, uma vez que a recuperação do sistema é lenta (ROCHA, 2003).

Existem diversos tipos de reatores anaeróbios de alta carga sendo utilizados para o tratamento de efluentes, diferenciando-se pelo tipo de crescimento de microrganismos no sistema. Existe o crescimento disperso que se relaciona à presença de flocos ou grânulos de bactérias totalmente livres, como é o caso dos reatores UASB, e o crescimento aderido, no qual as bactérias crescem em materiais inertes, levando à formação de um biofilme (filme biológico), como no filtro biológico anaeróbio.

Os reatores UASB foram desenvolvidos por Lettinga et al. (1980). O que permite a operação desses reatores com carga orgânica volumétrica (COV) elevada é o desenvolvimento de um lodo granular denso (em geral 40 gSSV/L) e com boa sedimentabilidade, que se concentra no fundo do reator (METCALF; EDDY, 2003). Para isso, esses reatores devem possuir mecanismos de retenção de biomassa, chamados de separadores gás-líquido-sólido ou separadores trifásicos (VIDAL; DIEZ, 2005; BANKS; WANG, 1999; CAIXETA et al., 2002; CAVALCANTI, 2003; FANG et al., 1996).

A parte inferior do reator UASB denomina-se leito de lodo, que se caracteriza pelo adensamento de biomassa. Acima do leito de lodo encontra-se uma zona de lodo mais dispersa denominada manta de lodo, em que os sólidos possuem velocidades de sedimentação mais baixas. A concentração do lodo nessa zona usualmente varia entre 1,5% e 4% (CHERCHINARO et al., 1999).

O reator UASB desempenha simultaneamente várias funções. Nele ocorre a sedimentação dos sólidos suspensos do efluente que ficam retidos no manto espesso de lodo biológico. Também ocorre a digestão da parte sólida retida (lodo da água residuária e parte da biomassa), resultando em um lodo bem estabilizado. Por fim, existe a degradação biológica da parte solúvel do efluente (KATO et al., 1999). O processo de tratamento de efluente em reator UASB consiste de um fluxo ascendente do efluente através do leito de lodo. A estabilização da matéria orgânica ocorre em todas as zonas do reator, leito e manta de lodo, sendo a mistura do sistema promovida pelos fluxos ascensionais do líquido alimentado e dos gases formados.

Segundo Cherchinaro (1997), a aplicação do reator UASB apresenta várias vantagens, como: facilidade de operação, pequena área para implantação, baixa geração de odores, boa estabilização do efluente final, baixo consumo de energia elétrica para a operação em comparação aos processos aeróbios de tratamento de efluentes, além da possibilidade de geração de energia por meio do biogás. Speece (1995) destaca outras vantagens, tais como o baixo custo de implantação e operação, baixa produção de lodo, satisfatória eficiência de remoção de DQO/DBO, concentrações elevadas de biomassa.

Vários estudos comprovam a eficiência do uso de reatores anaeróbios no tratamento de efluentes de agroindústrias tanto em escala de laboratório como em escala real (TORKIAN et al., 2003; CAIXETA et al., 2002; BANKS et al., 1999; WIEGANT et al., 1999), indicando que o LCCV pode ser tratado nesse tipo de sistema.

Uma pesquisa envolvendo reator híbrido anaeróbio em escala piloto para tratamento do efluente da indústria de fabricação de compensado de madeira foi desenvolvida por Fernández et al. (2001). Esses autores utilizaram efluente bruto que possuía 1.460 mg/L de taninos totais e 40.900 mgDQO/L. Foi aplicado pré-tratamento físico-químico, sendo removidos cerca de 13% da DQO inicial. Quando a COV aplicada variou de 6,5 a 8,5 kg DQO/m<sup>3</sup>.d, foram observadas remoções de DQO entre 90% e 93% e, ainda, remoção de até 90% de compostos fenólicos.

Uma variedade de água residuária que deve ser abordada é o lixiviado oriundo de resíduos de cascas de árvores, visto que é caracterizado por apresentar elevadas concentrações de tanino. Tipicamente, esse tipo de efluente apresenta a seguinte composição: taninos poliméricos (30%–55%), carboidratos (30%–40%), monômeros fenólicos tânicos e não tânicos (10%–20%), e DQO variando de 5 a 60 g DQO/L. A toxicidade desse efluente, para microrganismos anaeróbios, tem sido demonstrada em estudos anteriores, podendo ser devida aos taninos oligoméricos condensáveis, resinas de cadeias longas ou aos ácidos graxos (FRIGON et al., 2003). Esses autores estudaram o tratamento biológico do lixiviado de cascas de árvores usando um reator UASB

seguido de reator de lodos ativados ou de biofiltro aeróbio, todos em escala de laboratório. O afluente utilizado na pesquisa apresentava 20.900 mgDQO/L e 9,1 mg Fenóis totais/L. No reator UASB, a remoção variou de 61% a 89% com COV variando de 7,0 a 13,8 g DQO/L.d. Os autores concluíram que a atividade anaeróbia diminuiu com o tempo, mostrando que havia inibição parcial provavelmente provocada pela presença de taninos. Além disso, verificou-se que a concentração de fenóis no efluente do reator UASB era sempre maior que a afluente. Os autores explicaram que poderiam ter ocorrido transformações anaeróbias de moléculas mais complexas em monômeros fenólicos simples. Fato semelhante foi observado na pesquisa realizada por Field et al. (1988), que mencionaram que degradações incompletas de taninos poderiam resultar em produção de fenóis durante o tratamento anaeróbio.

## **Tratamento do LCCV por meio de bactérias aeróbias**

Como o sistema de lodos ativados é bastante difundido no tratamento de efluentes industriais (inclusive recalcitrantes) e existe a possibilidade de se atingirem resultados satisfatórios (de acordo com os trabalhos analisados), optou-se por incluí-lo no trabalho com LCCV.

## **Vias metabólicas aeróbias de degradação dos taninos**

As rotas metabólicas da degradação aeróbia de taninos hidrolisáveis se baseiam na transformação bioquímica de galotaninos (ou elagitatinos) em ácido gálico (ou ácido elágico) e, em seguida, em ácido pirúvico. A enzima responsável por essas reações é a tanase. No caso dos taninos condensados, as rotas se caracterizam pela formação inicial de catequina e quercetina e produção de hidroxihidroquinona, floroglucinol, catecol, entre outros (BHAT et al., 1998). A tanase produzida por bactérias pode degradar tanto galotaninos quanto elagitatinos (MONDAL; PATI, 2000; OSAWA et al., 2000, DESCHAMPS; LEBEAULT, 1984).

## **Sistema de Lodos Ativados**

A modalidade de lodos ativados mais empregada no tratamento de efluente contendo tanino é a convencional, podendo-se atingir desempenho razoável na redução de material orgânico. Esse processo

aeróbico opera com crescimento bacteriano em suspensão na massa líquida e com retenção de biomassa através de um decantador secundário. A introdução de oxigênio pode ser feita através de diferentes formas, como por meio de aeradores superficiais, sistemas com difusores. Até mesmo oxigênio puro pode ser introduzido diretamente nos tanques. Os sólidos biológicos crescem na forma de flocos e são mantidos em suspensão pelo equipamento de aeração, não há meio suporte de biomassa, como os materiais inertes (pedras, plástico etc.) introduzidos nos sistemas de filtros biológicos. A retenção de biomassa é feita através de recirculação do lodo separado nos decantadores acoplados aos reatores biológicos.

O resultado da interação entre microrganismos e matéria orgânica nos tanques de aeração é a formação de flocos. O oxigênio deve ser adicionado em quantidade suficiente para garantir o processo metabólico dos microrganismos que se desenvolvem no tanque reator e manter um pequeno saldo, segurança contra a ocorrência de anaerobiose. Uma boa floculação é necessária para que se tenha recuperação de sólidos elevada no decantador secundário e um efluente final com baixa concentração de sólidos em suspensão.

O excesso de lodo biológico descartado continuamente do sistema deverá ou não sofrer digestão bioquímica complementar, dependendo das condições operacionais. Quando se mantêm maiores tempos de residência celular, o excesso de lodo resultante é mais bem digerido.

Um ecossistema é formado no tanque de aeração de um sistema de lodos ativados. Quando as condições ambientais são adequadas, surgem as zoógleas, flavobactérias, aerobacter, pseudomonas e alcalígenes, responsáveis por boa biofloculação. Quando não, podem predominar excessivamente bactérias filamentosas como *Sphaerotillus natans*, *nocárdia* e outras bactérias responsáveis pelo intumescimento filamentoso do lodo, que leva à sua flutuação nos decantadores. Além das bactérias, protozoários são importantes organismos em sistemas de lodos ativados, consumindo matéria orgânica e bactérias mal floculadas, dando polimento ao efluente tratado. Aparecem mais

rapidamente protozoários fixos e, sucessivamente os ciliados cuja presença indica boas condições do lodo biológico.

As seguintes unidades são partes integrantes da etapa biológica do processo de lodos ativados: tanque de aeração (reator biológico): local onde ocorrem os processos de biodegradação; sistema de aeração: fornecimento de oxigênio necessário a biodegradação aeróbia; tanque de decantação (decantador secundário): separação da água tratada da biomassa formada; recirculação de lodo: aumentar a concentração da biomassa no reator biológico (PIVELI, 2005).

### **Tratamento aeróbio de taninos**

Chamorro et al. (2005) verificaram o comportamento de compostos aromáticos em efluente de indústria de papel, empregando lagoa aerada em escala de bancada. O efluente bruto apresentava DQO na faixa de 800 a 1.900 mg/L e concentração de taninos e ligninas variando de 44 a 64 mg/L. Os valores de operação da carga orgânica volumétrica foram entre 0,2 e 1,1 gDQO/L.d. A remoção de DQO solúvel variou entre 40% e 60%.

Zenaitis et al. (2002) estudaram o tratamento da água de lixiviação de um depósito de madeiras, empregando combinações de tratamento biológico aeróbio em batelada. O efluente apresentou valores de DQO e taninos iguais a 4.890 e 1.410 mg/L, respectivamente. O ciclo de operação adotado foi de 48h. A remoção obtida para DQO no processo aeróbio foi igual a 80%, enquanto a de taninos foi de 90%. Saroj et al. (2005) estudou o processo aeróbio em regime de semibatelada para tratar efluente sintético contendo somente ácido gálico, tanino ou lignina. Foram adotados ciclos de operação de dois dias e DQO afluente de 2.000 mg/L. A redução de DQO foi de 36% para efluente contendo somente tanino. Esse sistema em batelada também foi utilizado por Franta et al. (1994) para tratamento de despejo líquido pré-decantado de fabricação de papel. Esses autores empregaram dois reatores em escala de laboratório, obtendo remoção de DQO entre 80% e 95%. Houve detecção de compostos refratários no efluente tratado (principalmente compostos aromáticos provenientes de lignina), indicando baixa eficiência na degradação de substâncias de cadeia longa.



Diez et al. (2002) verificaram fatores operacionais e influência dos nutrientes para tratar efluente do processo de branqueamento do papel Kraft por meio de um sistema de lodos ativados convencional em escala de bancada. Os valores de COV variaram de 0,4 a 1,4 kg/m<sup>3</sup>.d para DBO e de 0,7 a 6,0 kg/m<sup>3</sup>.d para DQO. Operando-se com tempo de detenção hidráulica (TDH) de 10h, o efluente bruto apresentou DQO de  $1.208 \pm 415$  mg/L e taninos e ligninas na concentração de  $52 \pm 7$  mg/L. A remoção de taninos e ligninas foi entre 51,2% e 13,2% para a faixa de TDH entre 10h e 4,5h, enquanto a de DQO chegou a atingir 58,2% para TDH entre 16h e 6h. Os mesmos autores também realizaram testes de toxicidade usando *Daphnia* e mostraram que o efluente bruto era tóxico, porém deixava de sê-lo depois de tratado biologicamente (para tempos de detenção hidráulica na faixa entre 16h e 6h).

Benitez et al. (2003) obtiveram resultados insatisfatórios para o processo convencional de lodos ativados. Os autores avaliaram esse sistema em escala laboratorial para tratar água residuária do processo de fabricação de rolha a partir de cortiça. Os valores médios de DQO e fenóis totais do efluente bruto eram, respectivamente, 1.900 e 290 mg/L. O TDH empregado variou de 96h a 24h. Para valores iniciais de DQO de 1,73 a 1,89 g/L, fenóis totais de 0,23 g/L e COV entre 0,4 e 1,7 gDQO/L.d, a remoção de DQO foi de apenas 13-37%, enquanto a de fenóis totais foi 20%-32%. Esses dados obtidos evidenciam a inibição causada por compostos fenólicos, inclusive os taninos.

## **Tratamento do LCCV por meio de fungos**

Os fungos são reconhecidos por produzirem grande variedade de proteínas extracelulares, ácidos orgânicos, enzimas e, ainda, por sua capacidade de adaptação a condições ambientais adversas. Ao contrário do que ocorre com as bactérias, para os fungos não é observada limitação na difusão de vários substratos para o interior das células. Isto ocorre devido à produção de enzimas extracelulares que quebram grandes compostos em frações menores, facilitando a assimilação e permitindo, dessa forma, maior tolerância às concentrações elevadas de poluentes (KAPDAN et al., 2000).

O interesse na aplicação de fungos para tratamento biológico de águas residuárias vem crescendo devido às suas características fisiológicas. Segundo Santaella et al. (2005), a capacidade dos fungos de suportarem mudanças bruscas na concentração de matéria orgânica, terem rápida reprodução e proliferação, tolerarem grandes variações de pH e de temperatura e se adequarem a variações e escassez de umidade e de oxigênio são indicadores do potencial de aplicação destes microrganismos em tratamento biológico de águas residuárias.

Segundo Araújo et al. (2001), leveduras são fungos como os filamentosos, mas se diferenciam deles por se apresentarem predominantemente sob forma unicelular. Por serem células mais simples, leveduras crescem e se reproduzem mais rapidamente em relação aos fungos filamentosos. Uma levedura típica consta de células ovais que se multiplicam assexuadamente, comumente por brotamento ou gemulação.

### **Imobilização e formação de biofilme em reatores biológicos aeróbios**

A concepção do reator idealizada nesta pesquisa foi de biomassa imobilizada com vistas ao aumento da eficiência de degradação de compostos recalcitrantes, como os taninos, mediante acréscimo da concentração e adaptação da biomassa e, ainda, incremento na flexibilidade de operação, uma vez que o reator opera sob condições dinâmicas. Segundo Di Iaconi et al. (2002), o mecanismo de células imobilizadas é mais eficiente, para remoção de compostos tóxicos pelos fungos, em relação a sistemas de tratamento com meio disperso. Jou e Huang (2003) apresentam quatro vantagens principais no uso de biomassa aderida: simplicidade de operação, capacidade para suportar choques de carga orgânica, baixa produção de sólidos e, ainda, pouca necessidade de energia para operação. A utilização de reator com biofilme aderido oferece grande eficiência e estabilidade, principalmente quando se necessita de alta taxa de degradação (JOU; HUANG, 2003; GODJEVARGOVA et al., 2003).

A principal desvantagem dos reatores de biofilme fixo é a falta de mecanismos efetivos para controle da espessura do biofilme. Isso pode

contribuir para limitações à transferência de massa e à obstrução do leito (colmatação do sistema), implicando na necessidade de eventuais remoções do excesso de biomassa ou, até mesmo, retirada parcial ou total do meio-suporte.

De acordo com Alves (1999), a formação de biofilme aderido à superfície do suporte, acontece com predomínio deste sobre culturas livres em suspensão, havendo a criação de microambientes especiais pela interação entre as espécies, favorecendo o conjunto como um todo e garantindo grande estabilidade das colônias. Além disso, a utilização de suportes inertes assegura a retenção da biomassa no reator e propicia a operação com tempo de retenção celular muito elevado, aumentando a eficiência do reator.

O emprego de um suporte para imobilização da biomassa envolve questões relacionadas ao desempenho do reator, uma vez que poderá surgir resistência à transferência de massa, inerente a processos que envolvem duas fases distintas. Dessa forma, a eficiência de reatores contendo células imobilizadas também está diretamente relacionada com os fluxos de massa entre as fases líquida e sólida, os quais podem ser limitantes do processo de conversão e causar considerável decréscimo da velocidade global das reações (RATUSZNEI et al., 2000). Portanto, a escolha do material adequado a ser utilizado como suporte é de fundamental importância para a formação do biofilme e retenção da biomassa no interior do reator.

Para a imobilização da biomassa, diferentes tipos de materiais (espuma de poliuretano, poliamida, cloreto de polivinila (PVC), poliestileno - PE, tocos plásticos, escória de alto forno, pedra britada, materiais cerâmicos) têm sido estudados como meio suporte, sendo duas as principais características para seu uso no tratamento biológico de águas residuárias: não serem biodegradáveis e nem solúveis no meio (RATUSZNEI et al., 2000; SANTOS, 2005).

Alguns aspectos devem ser considerados para a boa formação do biofilme. O fornecimento de oxigênio afeta o crescimento da biomassa aderida (RATUSZNEI et al., 2000), e as condições hidrodinâmicas,

que em situações críticas provoca o desprendimento do biofilme por erosão ou cisalhamento (GIJZEN et al., 1988; WIRTZ; DAGUE, 1997; VARESCHE et al., 1997; GONÇALVES et al., 2001; PORTO, 2002; VIEIRA; MELO, 1999).

### **Vias metabólicas fúngicas de degradação dos taninos**

A degradação microbiológica de taninos hidrolisáveis se dá principalmente pela ação da tanase. Essa enzima é capaz de catalisar a hidrólise dos ésteres e quebrar as ligações de galotaninos reduzindo-os a ácido gálico e glicose. A tanase é produzida por diversos fungos, principalmente *Aspergillus* e *Penicillium*. Entretanto, nem toda tanase produzida é igualmente ativa em todos os taninos. A tanase de leveduras tem ação eficaz na decomposição de galotaninos, porém, atua de forma superficial na degradação de taninos de alto peso molecular como elagitaninos e taninos condensados (BHAT et al., 1998).

A via metabólica aeróbia, de degradação dos taninos hidrolisáveis, ocorre inicialmente por meio da ação da tanase, sendo convertida em ácido gálico para, em seguida, ser convertido em ácido pirúvico ( $\text{CH}_3\text{COCOOH}$ ) e, finalmente, ser introduzido no ciclo do ácido cítrico. Outra via de biodegradação transforma ácido gálico em pirogalol que pode ser convertido em ácido pirúvico ou em floroglucinol, o qual é transformado em acetato e butirato, que em condições aeróbias é consumido no ciclo do ácido cítrico (BHAT et al. 1998).

Várias leveduras e fungos filamentosos são capazes de sintetizar tanase (AOKI et al., 1976; BRADDOO et al., 1996; BAJPAI; PALTÍ, 1996; PINTO et al., 2003). Os fungos filamentosos, e mais especificamente as espécies dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, são os melhores produtores desta enzima (BRADDOO et al., 1996; BAJPAI; PALTÍ, 1996; BHAT et al., 1998; BATRA; SAXENA, 2005). Das oitenta linhagens fúngicas isoladas por Yamada et al. (1968) como produtoras de tanase, as duas que apresentaram maior capacidade de síntese foram identificadas como *Aspergillus oryzae*. Diferentes linhagens de *Aspergillus niger*, *A. japonicus* e *A. oryzae* são citadas como as melhores produtoras de tanase.

Os taninos condensados (ou proantocianidinas) são compostos fenólicos poliméricos constituídos por unidades flavan-3-ols (catequinas) e flavan 3-4 diols (leucoantocianidinas ou quercetinas) ligados por ligações carbono-carbono. Essas ligações conferem aos taninos condensados estrutura mais complexa com elevados pesos moleculares. Por essa razão, dentre todos os taninos, os condensados são os mais resistentes à biodegradação (ARUNACHALAM et al., 2003).

A degradação aeróbia dos taninos condensados se dá inicialmente pela quebra oxidativa dos anéis heterocíclicos das catequinas, convertendo-os em ácido carboxílico floroglucinol. Esse ácido sofre descarboxilação e cisão, convertendo-se em ácidos alifáticos, que são assimilados no ciclo do ácido cítrico (ARUNACHALAM et al., 2003).

### **Potencial dos fungos para tratamento de águas residuárias**

De acordo com Marins et al. (2003), leveduras têm sido citadas na literatura como agentes eficazes em degradar ampla gama de substâncias orgânicas, comumente encontradas nos efluentes industriais. Por utilizarem tais substâncias como únicas fontes de carbono e de energia, os microrganismos vêm se apresentando como poderosas alternativas aos métodos convencionais de tratamento, sendo cada vez mais empregados na resolução de problemas ambientais.

Para o tratamento de águas residuárias industriais, os fungos têm sido estudados para remoção de compostos específicos que muitas vezes são inibidores do crescimento de outros microrganismos, aparecendo desta maneira como uma alternativa aos tratamentos biológicos e físico-químicos convencionais (FACÓ, 2002).

Entre as muitas espécies fúngicas aplicadas no tratamento de águas residuárias, o fungo filamentoso *Aspergillus niger* é capaz de sobreviver e crescer na presença de compostos de difícil degradação. Reatores inoculados com esse fungo atingem bons resultados de remoção de matéria orgânica de águas residuárias industriais (FÉLIX, 2005).

Se os taninos são parte do sistema de defesa vegetal contra os microrganismos, a produção de tanase pode ser considerada como parte do contra-ataque microbiano. Tal ataque inclui estratégias como secreção de substâncias com elevada afinidade por taninos, produção de enzimas resistentes aos taninos, produção de polifenoloxidasas (enzimas capazes de quebrar os anéis fenólicos das proantocianidinas) e produção de sideróforos (SCALBERT, 1991).

### **Digestão aeróbia fúngica**

Nos processos biológicos aeróbios, o material orgânico é mineralizado pelo oxidante a produtos inorgânicos principalmente dióxido de carbono e água. Além disso, são sintetizados novos materiais celulares, os quais são facilmente removidos nas operações físicas de tratamento, ficando a água residuária livre de grande parte da matéria orgânica original (KAPDAN, 2000).

Segundo Griffin (1994), a obtenção de energia pelos fungos pode ocorrer por meio de via oxidativa (respiração) ou por fermentação. Na respiração, o oxigênio é o principal oxidante. Contudo, sob condições de baixas concentrações de oxigênio, algumas espécies podem fazer uso de nitrato como aceptor de elétrons. O processo de respiração resulta na conversão completa de compostos orgânicos em dióxido de carbono e água, com energia gerada por fosforilação oxidativa. Os organismos capazes de obter energia por ambas as vias (respiração e fermentação) conseguem crescer sob condições aeróbias e anaeróbias.

Os fungos filamentosos produzem enzimas como lípases, invertases, lactases, proteinases e amilases, que hidrolisam o substrato tornando-o assimilável mediante mecanismos de transporte ativo e passivo. Alguns substratos podem induzir a formação de enzimas degradativas. Há fungos que hidrolisam substâncias orgânicas, como quitina, osso, couro, inclusive materiais plásticos (PITARCH et al., 2002).

Bellaver et al. (2004) explicaram que existem diferenças quanto aos produtos do metabolismo celular de leveduras em condições de respiração e de fermentação. Ao crescer em condições aeróbias, a

levedura retira energia das ligações químicas da fonte de carbono. Por exemplo, a glicose de seis carbonos é quebrada, inicialmente, em duas moléculas de três carbonos (álcoois aldeídicos e cetônicos) que são convertidos em duas moléculas de ácido pirúvico.

Essa sequência de transformações químicas constitui a via metabólica chamada glicólise. O ácido pirúvico é completamente oxidado nas mitocôndrias pelo Ciclo de Krebs liberando  $\text{CO}_2$ , enquanto a cadeia respiratória gera água ao oxidar NADH, que é uma estrutura que capta energia com geração de composto contendo alta energia (ATP). Essa energia é utilizada para converter compostos intermediários da degradação metabólica em novas células. O consumo de oxigênio ocorre nas mitocôndrias (YAMAGUCHI, 2003).

A diferença básica nos produtos do metabolismo celular da levedura em processos fermentativos, em relação ao metabolismo aeróbio, consiste em que o ácido pirúvico formado, em vez de ser oxidado pelas mitocôndrias, é convertido principalmente em citosol e, em seguida em etanol, glicerol,  $\text{CO}_2$  e ácido succínico. Eventualmente, desde que estejam estabelecidas condições favoráveis para produção de biomassa, leveduras apresentam capacidade de produzir etanol mesmo em condições aeróbias (BELLAYER et al., 2004).

### ***Aspergillus niger* usado no Tratamento de Águas Residuárias**

O *Aspergillus niger* é uma espécie de fungo filamentosos que tem eficiência comprovada na degradação de compostos recalcitrantes, e remoção de DQO, presentes em vários efluentes industriais (BORJA et al., 1995; MIRANDA et al., 1996; VASSILEV et al., 1997; GARCÍA et al., 2000; RODRIGUES, 1999; SAMPAIO et al., 2004; FELIX, 2005; SANTOS et al., 2001).

Além disso, o *Aspergillus niger* é sintetizador eficiente de tanase, que é uma enzima capaz de fragmentar taninos hidrolisáveis (presentes no LCCV). Esse fungo é também capaz de utilizar taninos condensáveis (também presentes no LCCV), tendo essas substâncias como principais

fontes de carbono (BRADDO et al., 1996; BAJPAI; PALTÍ, 1996; PINTO et al., 2001; YAMADA et al., 1968; HOPPER; MAHADEVAN, 1997).

Vassilev et al. (1997) obtiveram bons resultados de remoção de fenóis presentes em água residuária de indústria de produção de óleo de oliva aplicando o fungo *Aspergillus niger* em meio enriquecido com nutrientes. Na ocasião, foram realizados ensaios de degradação em regime de bateladas sequenciais, que ocorreram em erlenmeyer de 250 mL, contendo 100 mL da água residuária inoculada com *Aspergillus niger*, imobilizada em cubos de espuma de poliuretano.

### **Leveduras usadas no tratamento de águas residuárias**

Godjevargova et al. (2003) estudaram o tratamento de água residuária de indústria química produtora de fenol aplicando leveduras da espécie *Trichosporon cutaneum* em meio disperso e imobilizada em grânulos de poliamida. Os ensaios de degradação foram realizados durante um período de 24h, ocorrendo os melhores resultados de remoção dos contaminantes fenol + dimetil fenil carbonil, ácido benzênico e acetona, com o emprego do *Trichosporon cutaneum* imobilizado.

Chen et al. (2002) aplicaram um reator aeróbio, com biomassa imobilizada, inoculado com *Candida tropicalis* para tratamento de efluente sintético contendo concentrações de fenóis variando de 1,0 a 5,0 g/L. O reator era operado com TDH de 15h. Quando o afluente era composto por 5,0 g de fenóis/L foi observada, após dez dias de operação, remoção de 95% desse composto.

Isidori et al. (2004) avaliaram o desempenho de reatores biológicos aeróbios inoculados com culturas mistas de leveduras para tratamento do efluente de uma indústria de azeite de oliva. O experimento baseou-se na remoção de DQO, fenóis totais, e de toxicidade ao rotífero *Brachionus calyciflorus* e ao crustáceo *Daphnia magna*. As máximas remoções foram de 85% e 67% para DQO e fenóis totais, respectivamente. Os autores observaram ainda redução da toxicidade em 43% para o rotífero e de 83% para o crustáceo.



## Sistemas biológicos com fungos tratando águas residuárias contendo taninos

O potencial de se empregarem fungos para o tratamento de substâncias persistentes, como os taninos, está relacionado à produção de grande número de enzimas extracelulares (tanases, proteases, celulasas, ligninases, lactases, entre outras), cujas ações tornam os organopoluentes mais acessíveis à biodegradação.

No trabalho apresentado por Hopper e Mahadevan (1997), os autores asseguram que alguns microrganismos, como *B. Japonicum*, utilizam catequina, um tipo de tanino condensável, como única fonte de carbono. Outra afirmação relevante dos autores, que colabora para a aplicação de fungos no tratamento do LCCV, é que microrganismos do gênero *Aspergillus* spp., *Streptomyces* sp., *Fusarium* sp. e *Pseudomonas* spp. também são capazes de utilizar a catequina como única fonte de carbono.

Segundo Bhat (1998), em 1913, Knudson foi o primeiro a reportar que ácido tânico poderia ser degradado por *Aspergillus niger*. Posteriormente, outros fungos filamentosos, especialmente dos gêneros *Penicillium* e *Aspergillus*, têm sido utilizados na degradação de taninos. Outros fungos e leveduras, incluindo *Chaetomium*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Cylindrocarpon* e *Trichoderma*, também são capazes de tratar esses efluentes.

Hamdi e Garcia (1993) afirmaram que a utilização de reatores com fungos, utilizando *Aspergillus niger* como inóculo, é uma boa alternativa para diminuição da toxicidade de efluentes contendo taninos.

Podem ser citados alguns trabalhos que tratam da degradação de taninos utilizando leveduras. Bhat (1998) cita em sua revisão bibliográfica os autores Aoki et al. (1976), que utilizaram *Candida* para degradar galotaninos.

Resultados significativos vêm sendo alcançados com a aplicação de fungos para o tratamento de efluente líquido de indústrias produtoras

de óleo de oliva. De acordo com D'Annibale et al. (1998), a água residuária da produção de óleo de oliva é caracterizada por ser altamente poluente ao meio ambiente por causa da sua elevada carga orgânica e coloração negra. Além disso, esses efluentes são potencialmente tóxicos aos microrganismos presentes em sistemas convencionais de tratamentos biológicos, visto que também são elevadas as presenças de taninos condensáveis, hidrolisáveis e polifenóis (GUIMARÃES et al., 2005). As pesquisas realizadas por D'Annibale et al. (1998); García et al. (2000); Dias et al. (2004); Fountoulakis et al. (2002); Santos e Linardi (2004); Vassilev et al. (1997) demonstraram a capacidade de remoção de fenóis, pelos fungos e leveduras, no tratamento de águas residuárias da indústria de produção de óleo de oliva. Apesar de os autores não apresentarem resultados da remoção de taninos, que estão presentes na água residuária, os resultados, possivelmente, corroboram a teoria de que a atividade de alguns fungos e leveduras não é inibida pela presença de taninos.

Um estudo, demonstrando a capacidade de tratamento de efluentes industriais utilizando-se *Aspergillus niger*, foi o desenvolvido por Kyriacou et al. (2005) para o tratamento da água residuária de indústria de processamento de azeitonas. A concentração de matéria orgânica na água residuária variou entre 8 g e 35 g DQO/L. O sistema operado em batelada obteve remoção de DQO de aproximadamente 70% e degradação completa de dez entre os quinze tipos de fenóis simples e ácidos orgânicos identificados na água residuária bruta.

Hopper e Mahadevan (1997) e Yamada et al. (1968) realizaram estudo para verificação da degradação de catequina (tanino condensado) por *Bradyrhizobium japonicum* e *Aspergillus flavus*. Segundo os autores, durante o catabolismo da catequina foram sintetizados diversos compostos fenólicos.

Nagarathnamma et al. (1999) apresentaram em seu trabalho que os métodos convencionais de branqueamento do papel utilizam compostos clorados gerando efluentes com elevados níveis de cor, e toxicidade

devida à presença de lignina. Além disso, apresentam elevados níveis de DQO. Muitos métodos biológicos foram testados para o tratamento deste efluente. Os fungos da podridão branca, que degradam madeira, mostraram grande potencial para tratar tal efluente. O sistema enzimático desses fungos inclui grupo de enzimas extracelulares que catalisam tanto a degradação da lignina quanto muitos compostos aromáticos persistentes e compostos halogenados, como benzenos, DDT, combustíveis pesados, dentre outros. O maior problema de se utilizarem tais fungos em escala real é a necessidade de se adicionar substrato de fácil degradação como glicose (facilitador do crescimento fúngico e da atividade enzimática), o que encarece consideravelmente o tratamento. A aplicação de *Rhizopus oryzae* demonstrou elevada capacidade de remoção de cor, compostos clorados, lignina e DQO do efluente do processo de branqueamento do papel, aplicando-se baixos níveis ( $< 1\text{mg/L}$ ) de substrato de fácil degradação (glicose). Mesmo sem a adição de glicose ocorreu remoção de 78% de cor.

## Codigestão

Segundo Teixeira (2007), o LCCV é um efluente rico em açúcares (principalmente glicose) e taninos totais. Portanto, nesta revisão abordou-se o papel da glicose como doadora de elétrons durante o metabolismo anaeróbio, bem como sua possível atuação durante o cometabolismo de compostos de difícil degradação, como os taninos, em ambientes anaeróbios.

Muitas vezes, a adição de cossustratos é uma das soluções tecnicamente mais adequadas para o tratamento anaeróbio de efluentes tóxicos. Durante a última década, diversos efluentes orgânicos têm sido utilizados como cossustratos em sistemas de digestão anaeróbia de efluentes agroindustriais, sendo esses cossustratos digeridos em combinação com o substrato predominante. As quantidades adicionadas variam de acordo com o sistema, e podem situar-se entre 20% e 50% do volume de efluentes introduzido no reator.

Razo-Flores et al. (1997) estudaram a completa degradação do azo corante azodisalicilato, por meio de ensaios anaeróbios em batelada

utilizando consórcios metanogênicos imobilizados em grânulos de lodo. Os corantes azo podem ser facilmente reduzidos a aminas aromáticas em condições anaeróbias. No entanto, esse processo requer a presença de quantidades equivalentes de agentes redutores, capazes de proporcionar os elétrons necessários para que o processo aconteça. Foi investigada, também, a influência de dois cossustratos (uma solução com acetato, propionato e butirato; e uma solução de glicose). Ambos os cossustratos apresentaram-se adequados. No entanto, a utilização de glicose permitiu o uso de maiores cargas do corante e remoções superiores a 99% para períodos de 41 a 136 dias.

Dos Santos et al. (2004) investigou o efeito de diferentes cossustratos na remoção de cor de corantes azo pelo uso de lodo granular anaeróbio sob condições mesofílicas (30 °C) e termofílicas (55 °C). Adicionalmente, foram estudadas em ambas as temperaturas, o efeito de diferentes doadores de elétrons nos processos de descoloração. Hidrogênio se mostrou extremamente efetivo como doador de elétrons para o processo de descoloração redutiva de azo corantes quando comparado com glicose, formiato e acetato. O autor afirmou que o acetato, apesar de ser um bom substrato para metanogênese, se mostrou um pobre doador de elétrons para a redução do corante RR2, quando comparado aos resultados de redução do corante RR2 utilizando glicose como substrato.

## **Objetivos**

### **Gerais**

Este trabalho teve como principal objetivo avaliar alguns tipos de tratamento biológico do líquido da casca do coco-verde (LCCV), minimizando os impactos ambientais das atividades das usinas de beneficiamento da casca do coco-verde.

### **Específicos**

- Avaliar a toxicidade do LCCV no processo de degradação anaeróbia.
- Avaliar a toxicidade do LCCV no processo de degradação por bactérias aeróbias.

- Avaliar a toxicidade do LCCV no processo de degradação por fungos.
- Avaliar o desempenho dos reatores UASB, Lodos Ativados e Filtro Biológico com Fungos para o tratamento do LCCV, todos em escala de laboratório.

## **Material e Métodos**

Para a realização desta pesquisa, utilizou-se um reator anaeróbio tipo UASB, um reator biológico com fungos (RBF) seguido de decantador, e um Sistema de Lodos Ativados (SLA), todos em escala de laboratório e operados independentemente. Os sistemas foram operados no Laboratório de Gestão Ambiental localizado na Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE.

### **Origem e produção da água residuária (LCCV)**

O LCCV era produzido na sede da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, utilizando-se uma unidade piloto de processamento da casca do coco-verde anão. O coco, após o consumo da água, era triturado e prensado. Da prensagem era produzido o LCCV, que era peneirado e em seguida ficava em repouso por cerca de 15 minutos para sedimentação de sólidos e flotação de espuma. A fase intermediária do LCCV era coletada por meio de um sifão. O LCCV decantado era armazenado em geladeira a uma temperatura de, aproximadamente, 5 °C. Na Figura 2, pode ser visualizada a máquina que triturava e a que prensava a casca de coco-verde triturada para a retirada do excesso de líquido, gerando o LCCV.



**Figura 2.** Máquina de trituração (A) e prensagem (B) da casca do coco-verde, onde era produzido o LCCV.

## Reator anaeróbio de fluxo ascendente e leito de lodo

### Reator UASB – Equipamentos

Esta pesquisa utilizou um reator UASB em escala de laboratório, que vinha sendo operado há aproximadamente um ano.

Esse reator foi confeccionado em tubos e conexões de PVC para esgoto, com diâmetro de 100 mm, altura total de 1,95 m e volume útil de 16,80 L. Para dimensionamento do reator, foram adotados os parâmetros: concentração afluente de 78,0 kg DQO/m<sup>3</sup>; COV de 10 kg DQO/m<sup>3</sup>.dia; velocidade ascendente de 0,6 m/h. Isso resultou em uma vazão afluente de 0,083 L/h e vazão de recirculação de 4,63 L/h, segundo metodologia apresentada por van Haandel e Lettinga (1994) e Cherchinaro (1997).

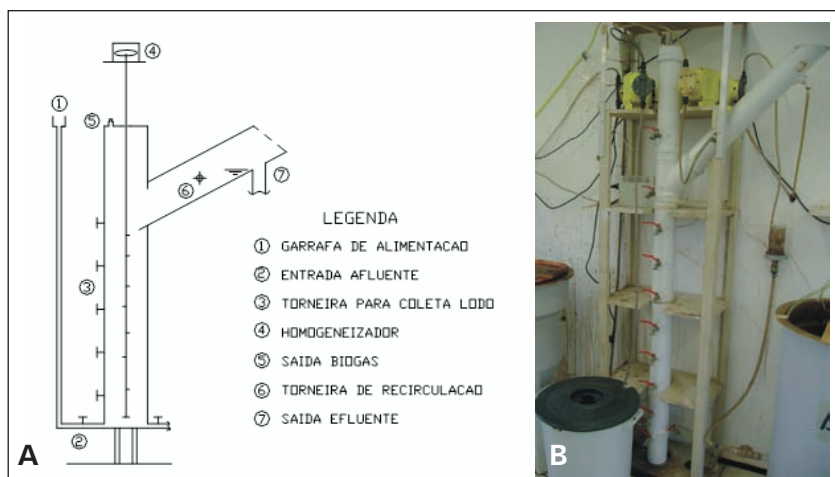
O reator UASB em escala de laboratório foi concebido em forma de Y, que configurava o separador de fases, uma modificação apresentada por Cavalcanti (2003). Na Figura 3, são mostrados o esquema simplificado de funcionamento do reator UASB e uma fotografia do UASB montado.

Foram instaladas sete torneiras ao longo do corpo principal do reator (sendo uma a cada 15 cm para amostragem do lodo). Além disso, foram instaladas três torneiras na região inferior do reator, sendo uma para entrada do afluente, a segunda para coleta de lodo e a terceira funcionava como reserva, caso ocorresse entupimento nas outras. Na extensão do Y, foi instalada uma outra torneira para recirculação do efluente, localizada a 15 cm da derivação do tubo.

Para evitar formação de “curtos-circuitos” no fluxo ascendente do reator, foi instalado um homogeneizador rotativo lento, de 1rpm (LEITÃO, 2004; BENINCASA et al., 1991).

Inicialmente, o afluente era acondicionado em reservatório de 50 L, à temperatura ambiente, e recalcado por meio de bomba de diafragma LMI Milton Roy modelo P133-398TI para a garrafa de alimentação. A partir do 180º dia de operação, o afluente foi conservado em geladeira a 5º C.

Foi utilizado um gasômetro produzido pela Ritter, modelo MGC-1 (faixa de vazão mínima de 1,0 mL/dia e máxima de 1,2 L/h) para medições do volume de biogás produzido.



**Figura 3.** Esquema simplificado de funcionamento do UASB (A) e o reator em escala de laboratório montado no laboratório de Gestão Ambiental (B).

### Teste de Atividade Metanogênica Específica (AME)

A metodologia de AME, utilizada nesta pesquisa, foi a descrita por Leitão (2004). Os testes tinham duração de cinco a quinze dias, com aplicação de duas cargas subsequentes de ácidos graxos voláteis (AGV) na forma de acetato de sódio e propionato de sódio (proporção 1:1 em DQO); bicarbonato de sódio; macro e micro nutrientes conforme Tabelas 1 e 2. A segunda carga era aplicada após conversão de pelo menos 75% do substrato da 1ª carga em metano. Para análises dos resultados, foram considerados apenas os valores da AME obtidos após aplicação da segunda carga. Todos os ensaios foram realizados em duplicata. Testes similares foram realizados com a utilização de glicose (2,5 g/L) na segunda carga.



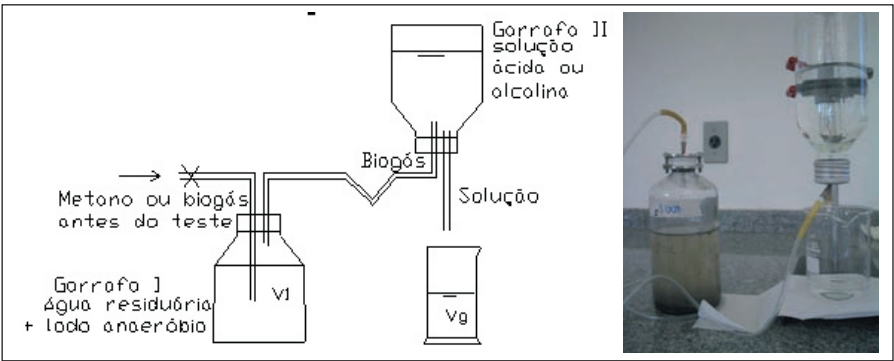
**Tabela 1.** Macronutrientes utilizados durante a pesquisa.

| Nutriente                            | Concentração (g/L) |
|--------------------------------------|--------------------|
| NH <sub>4</sub> Cl                   | 0,28               |
| K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>      | 0,25               |
| MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O | 0,10               |
| CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O | 0,01               |

**Tabela 2.** Solução de elementos-traço utilizada durante a pesquisa.

| Substância   | Concentração (mg/L) |
|--|---------------------|
| FeCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O                                   | 20,00               |
| H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>   | 0,50                |
| ZnCl <sub>2</sub>  | 0,50                |
| CuCL <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O                                   | 0,38                |
| MnCL <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O                                   | 5,00                |
| (NH <sub>4</sub> ) 6Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub> O | 0,50                |
| AlCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O                                   | 0,90                |
| CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O                                   | 20,00               |

Na Figura 4, são mostrados o esquema de funcionamento da AME e uma fotografia dos reatores utilizados neste ensaio.



**Figura 4.** Esquema e foto dos reatores utilizados para realização dos testes de AME e toxicidade metanogênica.

Fonte: van Haandel e Lettinga (1994).

## Teste de Toxicidade Metanogênica

A determinação da toxicidade anaeróbia foi feita a partir do teste de Atividade Metanogênica Específica, descrito em Leitão (2004), modificando-se apenas o substrato utilizado. Para o teste de toxicidade, variou-se a concentração do tóxico (LCCV) em substituição aos ácidos graxos voláteis (AGV), em termos de DQO. No teste, mede-se a produção de metano a partir do substrato (AGV com ou sem tóxico) quando ele é colocado em contato com uma batelada de lodo anaeróbio sob condições previamente escolhidas e estáveis (VAN HAANDEL; LETTINGA, 1994).

Os testes foram realizados em duplicata e tinham duração de cinco a quinze dias, com aplicação de duas cargas subsequentes de substrato. Na primeira carga, em todos os reatores, o substrato era composto de acetato e propionato de sódio (proporção 1:1 em DQO). A segunda carga era aplicada após conversão de pelo menos 75% do substrato em metano, utilizando-se diferentes proporções de LCCV (0, 25, 50, 75 e 100%), sendo complementada com AGV até que se atingisse DQO de 2,5 g/L. Da mesma maneira que nos teste de AME, para as análises dos resultados foram considerados apenas os valores obtidos após aplicação da segunda carga.

O LCCV utilizado foi autoclavado por vinte minutos a 111°C, 0,5 atm, objetivando-se o extermínio das leveduras nativas do LCCV, visto que elas produzem em condições facultativas ou anaeróbias dióxido de carbono, além de outros gases (TEIXEIRA, 2007) que possivelmente poderiam mascarar o teste. Com vistas à comprovação da eliminação das leveduras, foram realizadas análises microbiológicas de uma amostra de LCCV in natura, e de uma alíquota autoclavada, sob as mesmas condições do teste de toxicidade. A contagem das leveduras foi realizada no Laboratório de Bioprocessos da Embrapa Agroindústria Tropical (Fortaleza, CE), e seguiu a metodologia descrita por Silva e Amstalden (1997).

Amostras do biogás dos reatores 100% LCCV foram analisadas no Laboratório de Combustíveis e Lubrificantes (LCL) do Departamento de Engenharia Química da UFC em um cromatógrafo portátil Varian, modelo CP 4900.

## Estabilidade e biodegradabilidade anaeróbia do lodo

Para a realização do ensaio de estabilidade e biodegradabilidade anaeróbia do lodo presente no reator UASB, foram utilizados os mesmos reatores da AME. O ensaio durou trinta dias com adição de 150 mL de lodo e 250 mL de água destilada em cada reator. O lodo utilizado foi retirado do reator no 156º dia de operação. Conforme metodologia descrita por Leitão (2004), não foram adicionados substratos, nutrientes e bicarbonato aos reatores, sendo o ensaio realizado mediante o monitoramento do volume de biogás produzido durante processos de degradação dos substratos orgânicos presentes no lodo. Os ensaios foram realizados em duplicata a uma temperatura de 28°C. A biodegradabilidade anaeróbia do lodo foi calculada segundo a Equação 1 (Leitão, 2004).

$$\text{Bio} = (\text{DQO}^{30}_{\text{CH}_4} / \text{DQO}^0_{\text{X}}) \times 100 \quad \text{Eq. 1}$$

Em que: “Bio” é biodegradabilidade da amostra (%),  $\text{DQO}^{30}_{\text{CH}_4}$  é o volume total de metano produzido aos trinta dias em termos de DQO (g), e  $\text{DQO}^0_{\text{X}}$  é a massa inicial de lodo adicionada a cada reator.  $\text{DQO}^{30}_{\text{CH}_4}$  foi calculada baseada na lei de Henry.  $\text{DQO}^0_{\text{X}}$  foi calculada em função da concentração de sólidos totais voláteis (STV) do lodo e considerando que 1g de STV equivale a 1,5 g de DQO.

Para linearização da produção de metano e definição da estabilidade do lodo, foi seguida a metodologia descrita por Mgana (2003).

## Operação do reator UASB

Antes do início desta pesquisa, o reator UASB em escala de laboratório vinha sendo operado com COV de 2,2 kgDQO/m³.d, TDH de 16 h e afluente sintético contendo 1,6 g/L de sacarose, macronutrientes (Tabela 1), micronutrientes (Tabela 2) e 1,5 g/L de bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ), conforme Chaggu (2004). Anteriormente a esta pesquisa, o reator em escala de laboratório foi inoculado com lodo proveniente de um outro reator UASB em escala real, que operava em estado estacionário tratando efluentes da cervejaria Kaiser, localizada no município de Pacatuba, CE.

Nos 31 dias iniciais, foram mantidas as condições anteriores à pesquisa, e a partir do 32º dia de operação, iniciou-se a substituição da sacarose por LCCV. Depois, a COV foi elevada mediante o aumento da concentração de LCCV e concomitante redução da vazão conforme as Etapas descritas na Tabela 3.

Até o 184º dia de operação, o LCCV utilizado era autoclavado por 20 minutos a 111°C, 0,5 atm, para evitar a influência das leveduras no processo de digestão anaeróbia. A partir do 185º dia de operação, passou-se a utilizar LCCV bruto para alimentação do reator, simulando a operação em um reator em escala real. Até o 134º dia de operação, eram adicionados nutrientes ao afluente, conforme descrito nas Tabelas 1 e 2.

A partir da Etapa IV, iniciou-se a substituição do bicarbonato de sódio por cal virgem, visto que seria inviável economicamente a operação de reatores UASB em escala real para tratamento do LCCV utilizando-se bicarbonato de sódio como alcalinizante.

**Tabela 3.** Etapas da operação do UASB: substratos, volume de LCCV, água e alcalinizantes, utilizadas no afluente e concentrações de DQO, COV, vazão do afluente e TDH aplicados ao UASB durante a pesquisa.

| Etapas | Duração<br>(dias) | Tempo<br>acumulado<br>(dia) | Vazão afluente (L/dia) |           |                     | DQO <sup>(4)</sup> (g/L) | COV <sup>(4)</sup><br>(KgDQO/m <sup>3</sup> .d) | TDH (h)   | Alcalinizante (g/L) |     | Nutrientes <sup>(5)</sup> |
|--------|-------------------|-----------------------------|------------------------|-----------|---------------------|--------------------------|---|-----------|---------------------|-----|---------------------------|
|        |                   |                             | Solução de<br>sacarose | LCCV      | Água <sup>(3)</sup> | Total                    |   |           | NaHCO <sub>3</sub>  | CaO |                           |
| I      | 33                | 33                          | 25,2                   | .         | .                   | 25,2                     | 1,3 > 1,5                                       | 1,5 > 2,2 | 1,3                 | .   | Sim                       |
| II     | 40                | 73                          | 25,2 > 24,6            | 0,0 > 0,6 | 1                   | 25,2                     | 1,5   | 2,2       | 1,3                 | .   | Sim                       |
| III    | 104               | 177                         | .                      | 0,6 > 2,8 | 1 24,6 > 22,4       | 25,2                     | 1,5 > 6,7                                       | 2,2-10,0  | 1,3 > 6,5           | .   | Sim                       |
| IV     | 12                | 189                         | .                      | 2,8       | 1                   | 12,5                     | 13,5  | 10,0      | .                   | 5   | Não                       |
| V      | 19                | 208                         | .                      | 2,8       | 2                   | 6,0                      | 28,0  | 10,0      | .                   | 6   | Não                       |
| VI     | 14                | 222                         | .                      | 2,8       | 2                   | 2,8                      | 60,0  | 10,0      | .                   | 7   | Não                       |

Notas: <sup>(1)</sup>LCCV autoclavado. <sup>(2)</sup>LCCV não autoclavado. <sup>(3)</sup>Água de diluição. <sup>(4)</sup>Valores teóricos. <sup>(5)</sup>Nutrientes conforme Tabelas 1 e 2.

Monitoramento do reator UASB

O programa de monitoramento do efluente do reator UASB foi realizado segundo amostras compostas, coletadas durante período de 24h, com frequência de amostragem de três vezes por semana. As coletas de amostras do afluente ao UASB eram realizadas, também, três vezes por semana, ocorrendo simultaneamente à coleta do efluente no conjunto de reservatórios.

O monitoramento incluiu determinações físico-químicas das seguintes variáveis: volume de biogás, pH, taninos totais, alcalinidade, ácidos graxos voláteis (AGV) e DQO do afluente e efluente do reator UASB. Na Tabela 4, está apresentado o programa de monitoramento com as variáveis determinadas, frequências e métodos empregados durante o monitoramento do reator UASB.

**Tabela 4.** Variáveis determinadas, frequências e métodos empregados durante o monitoramento do afluente e efluente do UASB.

| Variável         | Método  | Afluente           | Efluente           |
|------------------|---|--------------------|--------------------|
| pH               | Potenciométrico                               | Diária             | Diária             |
| DQO              | Espectrofotométrico                           | 3 vezes por semana | 3 vezes por semana |
| Taninos totais   | Espectrofotométrico                           | 3 vezes por semana | 3 vezes por semana |
| Alcalinidade     | Potenciométrico                               | -                  | 3 vezes por semana |
| AGV              | Potenciométrico                               | -                  | 3 vezes por semana |
| Série de sólidos | Evaporação a 105°C e<br>Volatilização a 550°C | eventual           |                    |
| Volume de biogás | Gasômetro                                     | Diária             |                    |

As determinações de DQO foram realizadas segundo os procedimentos descritos no “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” (AMERICAN..., 2005) método 5220B.

Para determinação da alcalinidade total, e as parcelas de alcalinidade a bicarbonato, e a ácidos graxos voláteis, foi seguida a metodologia descrita por Buchauer (1998).

As medidas de pH foram realizadas com pHmetro da Tecnal, modelo R-TEC-03P-MP segundo os procedimentos descritos no “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” (AMERICAN..., 2005) método 4500 H + B. As determinações de taninos totais, realizadas a partir da Etapa II, seguiram o método descrito por Lowry et al. (1947).

As determinações da série de sólidos foram realizadas segundo os procedimentos descritos no “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” (AMERICAN..., 2005) métodos 2540B, 2540F, 2540C.

O balanço de massa do reator foi calculado conforme a Equação 2 (VAN HAANDEL; LETTINGA, 1994).

$$Q_{Afl} \times DQO_{Afl} = (Q_{Afl} \times DQO_{Afl}) + (Y \times Q_{Afl} \times DQO_{Afl}) + \left[ \frac{Q_{CH_4} \times \%CH_4}{DQO_{CH_4}^{CNTP} \times (273 + T) / (273 \times \text{Atm})} \right] \quad (\text{Eq. 2})$$

Em que  $Q_{afl}$  é a vazão do afluente,  $DQO_{afl}$  é a concentração de DQO no afluente,  $Y$  é a razão em volume produzido de metano por grama de DQO removida,  $Q_{CH_4}$  é a vazão de metano,  $\% CH_4$  é o percentual de metano no biogás,  $DQO_{CH_4}^{CNTP}$  é o equivalente em DQO da produção de metano sob as condições normais de temperatura e pressão,  $T$  é a temperatura em graus Celsius.

Para o cálculo da COV foi aplicada a Equação 3 (VAN HAANDEL; LETTINGA, 1994).

$$COV = \frac{(Q_{Afl} \times DQO_{Afl})}{V_{REATOR}} \quad (\text{Eq. 3})$$

Em que:  $Q_{afl}$  é a vazão do afluente,  $DQO_{afl}$  é a concentração de DQO no afluente,  $V_{REATOR}$  é o volume do reator.

Nos 120<sup>o</sup>, 150<sup>o</sup> e 200<sup>o</sup> dias de operação, amostras do biogás do UASB foram coletadas e analisadas no Laboratório de Combustíveis e Lubrificantes (LCL) do Departamento de Engenharia Química da UFC, em um cromatógrafo portátil Varian, modelo CP 4900.

## Sistema de lodos ativados

### Ensaio de respirometria

Este ensaio consiste na determinação da taxa de consumo de oxigênio ao longo do tempo e tem várias utilidades, dentre elas, determinar a atividade do lodo em termos da taxa máxima de utilização do material orgânico, a toxicidade de efluentes industriais e a cinética do sistema de lodos ativados. De acordo com van Haandel e Marais (1999), a Equação 4 representa a medida da taxa de consumo de oxigênio:

$$TCO = \frac{OD_1 - OD_2}{t_2 - t_1} \quad (\text{Eq. 4})$$

Em que TCO é a taxa de consumo de oxigênio ( $\text{mgO}_2/\text{L} \cdot \text{min}$ );  $OD_1$  é a concentração de oxigênio dissolvido inicial ( $\text{mgO}_2/\text{L}$ );  $OD_2$  é a concentração de oxigênio dissolvido final ( $\text{mgO}_2/\text{L}$ );  $t_2 - t_1$  é o intervalo de tempo adotado para medição (min).

Para esta etapa do trabalho utilizou-se como reator um fermentador com volume útil de aproximadamente 2 L (Figura 5). O fornecimento de oxigênio era realizado por meio de minicompressor de ar, com pedra porosa para difusão das bolhas. A agitação da amostra contendo lodo e efluente era garantida por uma haste com paletas e hélice ligada a um motor que fica na parte superior do suporte do fermentador. A velocidade de rotação da turbina era mantida no nível mínimo para não provocar oxigenação superficial significativa. A concentração de oxigênio dissolvido era detectada por meio de um oxímetro YSI modelo F-1550A.

A medição de TCO foi feita manualmente. Inicialmente, promovia-se aeração até se obter  $3 \text{ mgO}_2/\text{L}$ . Em seguida, paralisava-se o fornecimento de ar e media-se o intervalo de tempo da depleção até  $1 \text{ mgO}_2/\text{L}$  (SILVA FILHO et al., 2004). O intervalo de tempo adotado entre as medições do decaimento de OD era igual ou superior a 5 min, dependendo do tempo de decaimento medido.



O ensaio de respirometria deste trabalho foi dividido em partes nas quais, para cada composição de efluente (0%, 25%, 50%, 75% e 100% de LCCV em termos de carga orgânica), se verifica o valor máximo de TCO, o nível de toxicidade devido ao LCCV e indicação de inibição permanente. Durante todo o ensaio, foi utilizada alitioureia (ATU) a 12 mg/L para inibir a nitrificação no fermentador. Esta concentração é a mesma adotada por Macé et al. (2006).



**Figura 5.** Equipamento empregado no teste de respirometria.

### Ensaios preliminares

Foram testados diferentes valores de DQO no fermentador imediatamente após adição de efluente sintético (67, 167, 667, 1.333 e 2.000 mg/L). Os fatores que influenciaram na escolha da DQO a ser empregada nos testes foram o tempo total de ensaio e o valor máximo de TCO atingido. Com base no valor de DQO escolhido, no volume útil do fermentador, no valor aproximado de concentração de lodo no fermentador (SSV) e nos valores de DQO do efluente sintético e do LCCV, adotou-se uma relação alimento/microrganismo (mgDQO/gSSV) semelhante para todas as composições testadas (25, 50, 75

e 100% de LCCV). Como a DQO aplicada no fermentador deve ser a mesma para efeito de comparação, o volume de efluente adicionado é inversamente proporcional à concentração de LCCV.

Depois de alguns ensaios preliminares de toxicidade com base no valor original adotado de DQO, novamente foram testados diferentes valores de DQO imediatamente após a adição de efluente sintético (1.333, 2.000, 2.667, 4.000 e 6.667 mg/L) com o objetivo de se obter um valor mais representativo de TCO máxima com efluente sintético.

Para verificar possível presença de leveduras no LCCV, realizou-se contagem de leveduras com amostra de efluente in natura de acordo com Silva e Amstalden (1997) e com LCCV esterilizado em autoclave a 110 °C e pressão de 0,5 atm por vinte minutos.

### **Lodo utilizado no ensaio de respirometria**

Nos testes preliminares de toxicidade, o lodo era proveniente do reator de fluxo contínuo enquanto este era alimentado apenas com efluente sintético. Esses ensaios preliminares foram iniciados depois de 47 dias com o sistema de lodos ativados em regime de fluxo contínuo.

Como era necessário iniciar a alimentação do sistema de lodos ativados com LCCV, optou-se pelo cultivo de lodo alimentado somente com efluente sintético para continuar os ensaios de respirometria. Esse inóculo passou a ser a fonte de lodo para o teste de TCO, garantindo maior controle operacional do lodo usado na respirometria.

### **Ensaio de toxicidade causada pelo LCCV**

Com a confirmação da presença de leveduras e de sua influência na determinação de TCO, optou-se por realizar o teste de toxicidade com LCCV autoclavado a 110 °C por vinte minutos. Também foram realizados testes com o LCCV in natura, simulando o que deverá ocorrer no reator de fluxo contínuo.

Primeiramente, 2 L de licor misto eram colocados dentro do fermentador. Em seguida adicionavam-se 24 mg de ATU e ligavam-se o

agitador e o aerador. Por fim, media-se a TCO até se atingir o patamar indicativo de respiração endógena (TCO constante).

Depois de se atingir a respiração endógena do lodo, o aerador e o agitador eram desligados por 15 min para que fosse possível a sedimentação do lodo no fermentador. Após isso, parte do sobrenadante era retirado, sendo o volume extraído igual ao volume de efluente a ser adicionado. O aerador e o agitador eram acionados novamente e em seguida adicionavam-se 24 mg de ATU. Desligava-se o aerador e quando o oxímetro indicava concentração de OD igual a 3,20 mgO<sub>2</sub>/L, adicionava-se efluente ao fermentador e a medição de TCO era imediatamente iniciada. Do perfil de respirometria realizado, aproveitava-se o valor máximo de TCO para os cálculos de inibição. Depois de se atingir a respiração endógena, 200 mL de licor misto eram coletados para determinar sólidos suspensos voláteis (SSV) e efetuar o cálculo da porcentagem de inibição de acordo com a Equação 5 citada por Ricco et al. (2004):

$$\% \text{ inibição} = \left( 1 - \frac{TCO_{Ect}^{\max}}{TCO_{Ees}^{\max}} \right) \times 100 \quad (\text{Eq. 5})$$

Em que TCO<sub>Ect</sub><sup>Max</sup> é a taxa de consumo de oxigênio específica máxima da composição testada, dada pela razão entre TCO máxima e concentração de lodo (mgO<sub>2</sub>/gSSV.d); TCO<sub>Ees</sub><sup>Max</sup> é a taxa de consumo de oxigênio específica máxima do efluente sintético, dada pela razão entre TCO máxima e concentração de lodo (mgO<sub>2</sub>/gSSV.d).

### **Verificação de inibição permanente causada pelo LCCV**

Nesta etapa do teste de biodegradabilidade aeróbia, era observado se o valor máximo de TCO específica (TCO<sub>e</sub>) do controle era novamente atingido, indicando uma possível inibição permanente causada pela adição de LCCV ao fermentador. Continuando o procedimento do item 4.3.3, 24 mg de ATU eram adicionados ao fermentador. Em seguida, quando a leitura de OD indicava 3,20 mgO<sub>2</sub>/L, 200 mL de efluente sintético eram colocados dentro do fermentador. Por fim, media-se

imediatamente o perfil de TCO até que não ocorresse mais aumento da TCO. Novamente, aproveitava-se o valor máximo de TCO obtido para os cálculos feitos a partir da Equação 5.

### **Análise estatística**

Para avaliar a representatividade dos dados obtidos na respirometria, foram ajustados modelos de regressão (DRAPPER SMITH, 1981) para cada tipo de LCCV no ensaio de toxicidade de acordo com a Equação 6.

$$Y_{ij} = \alpha + \beta.X_i + \varepsilon_{ij} \quad (\text{Eq. 6})$$

Em que:  $Y_{ij}$  é a taxa de consumo de oxigênio específica máxima ( $\text{mgO}_2/\text{gSSV.d}$ ) correspondente à concentração  $i$  ( $i = 1, 2, 3, 4, 5$ ) e repetição  $j$ ;  $\alpha$  é o coeficiente linear;  $\beta$  é o coeficiente angular;  $X_i$  é a porcentagem de LCCV no efluente composto;  $\varepsilon_{ij}$  é o erro aleatório associado a cada observação.

Foram utilizadas duas repetições para 50% e 100% de LCCV e uma repetição para as demais porcentagens. O intervalo de confiança adotado para este trabalho foi de 95%, enquanto o máximo valor-P aceitável para verificação de significância foi de 0,05.

Os parâmetros estatísticos foram estimados pelo método dos mínimos quadrados, utilizando o procedimento REG do SAS System (SAS Institute Inc., 1999). Os modelos obtidos para cada tipo de LCCV foram comparados utilizando os intervalos de confiança para os parâmetros calculados a partir da regressão.

Para os dados obtidos com o ensaio de inibição permanente, foram ajustados modelos semelhantes ao da equação 4, porém  $Y_{ij}$  é a TCOe máxima obtida aplicando o efluente controle após a realização do teste de toxicidade com LCCV para concentração  $i$  e com repetição  $j$ .

Nos casos em que os modelos ajustados para cada tipo de LCCV foram semelhantes, ajustou-se um modelo único, independente do tipo de efluente.

Dimensionamento do sistema de tratamento

O sistema de lodos ativados foi projetado de acordo com van Haandel e Marais (1999), com algumas modificações e acréscimos. Os principais valores do dimensionamento estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Dimensões do sistema de lodos ativados utilizado no experimento.

| Parâmetro                   | Tanque de aeração | Tanque de decantação |
|-----------------------------|-------------------|----------------------|
| Diâmetro (m)                | 0,49              | 0,38                 |
| Altura útil (m)             | 0,60              | 0,70                 |
| Altura útil do cilindro (m) | -                 | 0,30                 |
| Altura do cone (m)          | -                 | 0,40                 |
| Volume útil (L)             | 115               | 49                   |

A principal dificuldade encontrada durante o dimensionamento foi o baixo valor do volume calculado para o decantador devido à vazão afluente pequena. Para facilitar a operação, o decantador foi superdimensionado.

Sistema de lodos ativados – Equipamento

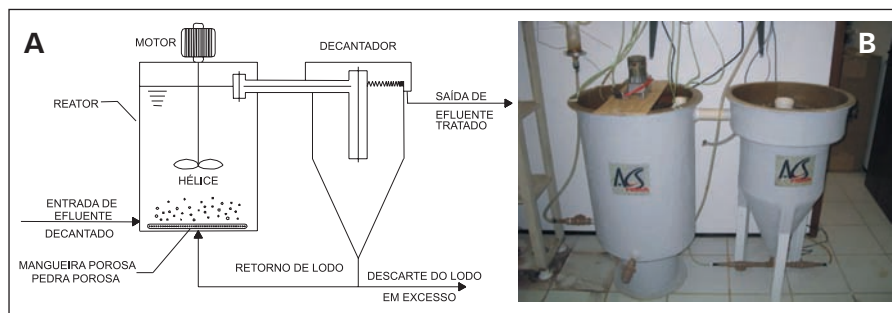
O reator e o decantador foram confeccionados em fibra de vidro pela empresa ACS Fibras. Utilizaram-se, inicialmente, bombas dosadoras LMI Milton Roy modelo P133-398TI para adicionar efluente ao reator e recircular o lodo. Em seguida essas bombas foram substituídas por bombas dosadoras Injetronic V-6.

Inicialmente, o fornecimento de ar foi garantido por meio de minicompressores de ar. A distribuição das bolhas de ar foi feita por pedras porosas e mangueiras porosas flexíveis localizadas no fundo do reator. Depois de 189 dias de regime em fluxo contínuo, os minicompressores foram substituídos por um compressor da marca Schulz, modelo MSV-6/30, com vazão de ar de 141-170 L/min e potência de 1,0 CV. Por fim, no 199º dia de regime em fluxo contínuo, foi utilizado um compressor radial de ar, de 0,5 CV.

Inicialmente, a mistura do licor misto era promovida por uma hélice ligada a um motor. Depois, o conjunto motor-hélice foi desativado e a própria aeração era a responsável pela agitação do licor misto.

No começo do experimento com regime de fluxo contínuo, o efluente de alimentação do sistema era previamente refrigerado e o efluente de saída ficava em temperatura ambiente. Depois de 173 dias de regime em fluxo contínuo, ambos os efluentes passaram a ser mantidos a 4° C.

A configuração do sistema de tratamento é mostrada na Figura 6.



**Figura 6.** Esquema simplificado (A) e foto do sistema de lodos ativados (B).

## Adaptação do sistema de lodos ativados

### Inoculação do sistema

O inóculo utilizado no experimento foi obtido do tanque de aeração do sistema de lodos ativados da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) do Shopping Center Iguatemi (Fortaleza, CE) que recebe esgoto doméstico. Como os parâmetros de operação da ETE do Shopping Iguatemi não foram repassados de imediato, estipulou-se uma carga orgânica volumétrica de 1,0 gDQO/L.d para o efluente sintético colocado no reator durante a inoculação, resultando em DQO de entrada igual a 26,67 g/L. O sistema começou a receber efluente sintético de maneira contínua um dia após a inoculação.

### Alimentação do sistema de lodos ativados com efluente sintético

A água residuária sintética consistia de sacarose, macronutrientes e micronutrientes. A opção pela sacarose se deve à facilidade de aquisição e praticidade do produto. A relação DBO:N:P empregada foi de 100:5:1 (DIEZ et al., 2002). Os compostos inicialmente utilizados

como fonte de nitrogênio e fósforo foram uréia ( $\text{NH}_2\text{CONH}_2$ ) e superfosfato simples ( $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), também usados por Santos (2001). Devido a dificuldades com o manuseio, o superfosfato simples foi substituído por fosfato de sódio dibásico ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), que foi utilizado por Aggelis et al. (2001).

Com relação aos nutrientes restantes, optou-se pelos reagentes mais encontrados na literatura, sendo as concentrações determinadas pela média dos valores mais encontrados que fossem próximos entre si (Tabela 6). Para manter o pH do efluente sintético entre 6,5 e 7,5 utilizou-se bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ) a 2g/L.

**Tabela 6.** Reagentes e valores de concentração adotados para adição de nutrientes complementares no efluente sintético.

| Reagente  | Concentração (mg/L) |
|---|---------------------|
| $\text{K}_2\text{HPO}_4$  | 25                  |
| $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$                           | 25                  |
| $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$                           | 5,3                 |
| $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$                           | 0,3                 |
| $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$                           | 16                  |
| $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$                            | 2,0                 |
| $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | 0,2                 |
| $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$                           | 0,3                 |
| $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$                           | 0,01                |
| $\text{NiCl}_2$   | 0,02                |
| $\text{H}_3\text{BO}_3$   | 0,08                |

Nos primeiros quatro dias de adaptação do reator em regime de fluxo contínuo, o valor de COV adotado foi de 1,0 gDQO/L.d. O reator recebia apenas efluente sintético. Depois o valor de COV foi reduzido para 0,5 gDQO/L.d, que é o valor original ao qual o inóculo era submetido e que foi finalmente repassado quatro dias após a inoculação.

### **Alimentação do sistema de lodos ativados com efluente composto**

Depois de 120 dias de alimentação somente com efluente sintético, o LCCV (misturado com efluente sintético) foi adicionado gradualmente ao reator. Para adotar um valor inicial de porcentagem de LCCV (em termos de carga orgânica) a ser adicionado ao reator, utilizou-se o teste de toxicidade no ensaio de respirometria como parâmetro.

Iniciou-se o período de adaptação do reator ao LCCV com efluente composto contendo 25% de LCCV e 75% de efluente sintético em termos de carga orgânica. O sistema foi alimentado durante 36 dias com esta composição.

Em seguida, iniciou-se um período de progressão uniforme na porcentagem de LCCV de 10 em 10%, começando com 30% até se atingir 100% de LCCV. Esta fase durou dezessete dias, totalizando 53 dias de adaptação ao LCCV. A ideia inicial era aumentar a concentração de LCCV para 50%, 75% e, finalmente, 100%; porém talvez fosse necessário um tempo mínimo de aclimação para cada porcentagem. Como o tempo disponível para executar a operação era pequeno, optou-se pelo aumento da porcentagem de LCCV menos abrupto em um intervalo de tempo pequeno (dezesseis dias).

Também houve correção nutricional com adição de N e P no efluente composto, considerando-se as quantidades originalmente presentes no LCCV. Na fase final de adaptação, a temperatura de conservação dos efluentes de entrada e de saída do sistema era de aproximadamente 4 °C.

O hidróxido de sódio foi usado apenas no início da fase de alimentação com efluente composto (quatro dias), pois se verificou que apenas  $\text{NaHCO}_3$  a 6,0g/L – aproximadamente uma relação de 1g de  $\text{NaHCO}_3$  para 10g de DQO do LCCV – era suficiente para manter o pH entre 6,5 e 7,5.

### **Operação do Sistema de Lodos Ativados**

A operação do reator foi iniciada quando o efluente de alimentação do sistema passou a ser somente LCCV, e durou 63 dias. A temperatura média do licor misto no reator era de 29 °C. Havia correção nutricional com N (ureia) e P (fosfato de sódio dibásico) e



tamponamento com  $\text{NaHCO}_3$ . Não houve necessidade de correção de pH com  $\text{NaOH}$ , pois a adição de  $\text{NaHCO}_3$  era suficiente para manter o pH entre 6,5 e 7,5.

A princípio, o descarte de lodo no fundo do tanque de decantação era feito manual e diariamente.

Os valores dos parâmetros de operação podem ser observados na Tabela 7.

**Tabela 7.** Parâmetros de operação do sistema.

| Parâmetro                     | Valor        |
|-------------------------------|--------------|
| Vazão afluente                | 4,3 L/d      |
| Vazão de recirculação do lodo | 4,3 L/d      |
| Vazão de descarte do lodo     | 0,8 L/d      |
| Carga orgânica volumétrica    | 2,3 gDQO/L.d |
| Tempo de detenção hidráulica  | 26,7 d       |
| Tempo de retenção celular     | 90 d         |

## Monitoramento do sistema de lodos ativados

O monitoramento do sistema ocorreu mediante determinações físico-químicas do efluente de entrada e do de saída do sistema, além da verificação dos parâmetros operacionais Índice Volumétrico de Lodo (IVL), OD e temperatura do licor misto.

Os parâmetros físico-químicos, o método empregado e a periodicidade das determinações foram (exceto taninos totais): pH, potenciometria, cinco vezes por semana; DQO, método colorimétrico, duas vezes por semana; sólidos suspensos (SS), método gravimétrico, semanal. Essas determinações foram feitas de acordo com AMERICAN..., (2005) A determinação de DQO foi feita com amostras bruta e filtrada.

A determinação de taninos totais foi adaptada de Lowry et al. (1947). A solução padrão utilizada foi ácido tânico com concentração máxima de 100 mg/L e coeficiente linear igual a zero.

A concentração de OD e a temperatura eram medidas diariamente na parte superior do licor misto do reator através de um oxímetro YSI modelo F-1550A. A concentração mínima de OD adotada para este trabalho foi de 2,0 mgO<sub>2</sub>/L (KORTEKASS, 1998).

A determinação do índice volumétrico do lodo (IVL) era realizada semanalmente. Esse parâmetro indica a capacidade de sedimentação do lodo. A sedimentabilidade é ótima quando o IVL é de 0 a 50 mL/g, boa quando varia de 50 a 100 mL/g, média de 100 a 200 mL/g e péssima quando é superior a 300 mL/g.

## Reator biológico com fungos

O sistema aeróbio, proposto para tratamento do LCCV, era composto por um reator biológico com fungos (RBF) e um decantador secundário. O fungo *Aspergillus niger* foi escolhido como inóculo para o RBF por ser de ampla ocorrência e ter sido utilizado em vários trabalhos de tratamento biológico de águas residuárias industriais com bastante sucesso (FU; VIRAGHAVAN, 2002; SAMPAIO et al., 2004; SÁ, 1997; SANTOS, 2005; GIFFONI, 2000; MEDEIROS, 2003; FACÓ, 2002; RODRIGUES, 1999; FREITAS NETO, 2005; SANTOS; LINARDI, 2004; OLIVEIRA et al., 2006; SOUSA et al., 2006; FREITAS NETO et al., 2006; FELIX et al., 2006; ARTHAUD et al., 2006).

## Cultivo e preparação da espécie fúngica

A espécie *Aspergillus niger* AN 400, proveniente do departamento de genoma de fungos da Universidade de Wageningen, Holanda, foi cultivada em placas de Petri com meio de cultura Agar Sabouraud Dextrose, 1 mL de solução de Vishniac por litro de meio de cultura e 0,05 g de cloranfenicol/L.

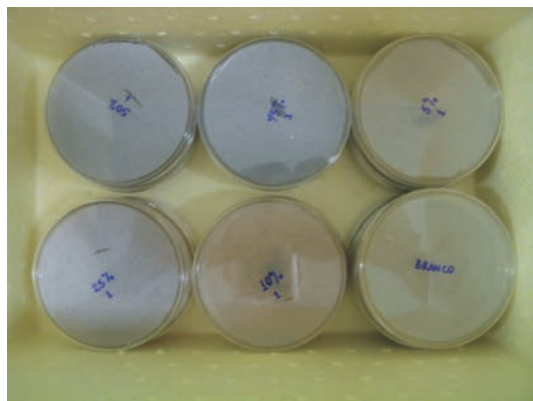
As placas foram colocadas em uma caixa de isopor, previamente limpa e desinfetada utilizando-se hipoclorito de sódio a 10%, pelo período de três dias e, mantidas, à temperatura média de 28 °C. Foi utilizada solução de Vishniac, descrita por Rodrigues (2006).

Os esporos de *Aspergillus niger* foram removidos das placas com 4 mL de solução de Tween 80 e transferidos para tubos de ensaio. Para

contagem dos esporos foi preparada uma solução utilizando 50  $\mu\text{L}$  de suspensão de esporos, previamente agitados em agitador tipo Vórtex, e 950  $\mu\text{L}$  de solução Tween 80, resultando em diluição de 1:20. Em seguida 20  $\mu\text{L}$  da solução preparada foram transferidos para uma câmara de Neubauer, dividida em 25 grupos de 16 pequenos quadros (0,2mm). Procedeu-se à contagem dos esporos em microscópio óptico, segundo metodologia descrita por Tuite (1969), sendo a determinação da concentração de fungos realizada por meio do número contado de fungos  $\times 20$  (diluição)  $\times 2,5 \times 10^5$  (volume ocupado pela solução de fungos), que resultou na concentração de fungos por mL.

### Teste de toxicidade em placas

Para os testes de toxicidade, diversos *erlenmeyers* contendo diferentes concentrações (v/v) da água residuária (LCCV): 0% (branco), 10%, 25%, 50%, 75% e 100% foram autoclavados por quinze minutos, a 120 °C e, pressão de 1,0 atm, juntamente com o meio de cultura, Agar Sabouraud Dextrose. Após breve resfriamento, foram adicionadas, a cada *erlenmeyer*, soluções de Vishniac (1mL/L) e cloranfenicol (0,05 g/L). Esta solução foi distribuída em dezoito placas de Petri (Figura 7), divididas em lotes, sendo cada lote constituído em triplicata. Após o endurecimento do meio nas placas, cada uma foi inoculada com  $2,0 \times 10^6$  esporos/mL, de *Aspergillus niger* AN 400. Nesta etapa foi determinada a concentração máxima de efluente na qual os fungos conseguiram crescer.



**Figura 7.** Placas preparadas para o Teste de toxicidade do LCCV para o *Aspergillus niger* AN 400.

## Ensaio de biodegradabilidade aeróbia fúngica do LCCV

Foram realizados dois ensaios de biodegradabilidade do LCCV por *Aspergillus niger* utilizando-se erlenmeyers de 250 mL. Em cada ensaio foram montados vinte reatores, sendo dez de controle (sem fungos) e dez com fungos. Aos reatores de controle, foram adicionados 125 mL de LCCV bruto (não autoclavado), 1ml de solução de Vishniac/L e 0,05g de cloranfenicol/L (antibiótico). Os reatores com fungos foram montados de maneira semelhante aos sem fungos, porém foi acrescentada uma suspensão de *Aspergillus niger* AN 400 à concentração de  $2 \times 10^6$  esporos/mL.

Todos os reatores foram tampados com algodão hidrófobo e agitados a 200 rpm em mesa agitadora (Figura 8). O experimento foi montado em duplicata, com desmonte de quatro reatores (dois controle e dois com fungos) no 2º, 8º, 12º, 21º, 30º e 42º dia, após caracterização inicial no dia de montagem (dia 0). As variáveis determinadas nesse ensaio foram DQO solúvel e taninos totais.



**Figura 8.** Ensaio de biodegradabilidade aeróbia do LCCV.

Para determinação da DQO solúvel, as amostras foram filtradas em papéis de filtro “Qualy” com poros de  $14\mu\text{m}$ , diâmetro de 11cm, sem auxílio de bomba de vácuo. Neste ensaio, todos os materiais utilizados foram previamente autoclavados a  $120\text{ }^{\circ}\text{C}$  e 1atm, por quinze minutos.

O *software* utilizado para análises estatísticas foi o Graphpad Prism<sup>®</sup> versão 5.0. Para avaliação dos resultados foram realizadas análises de variância (ANOVA), com grau de significância de 95% ( $\alpha < 0,05$ ), seguida do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis que fez uma comparação múltipla entre as concentrações de DQO e taninos totais nos reatores controle e com fungos. O mesmo programa foi utilizado para realização das análises de correlação, sendo aplicado o teste não paramétrico de Spearman.

### **Reator biológico com fungos – Equipamentos**

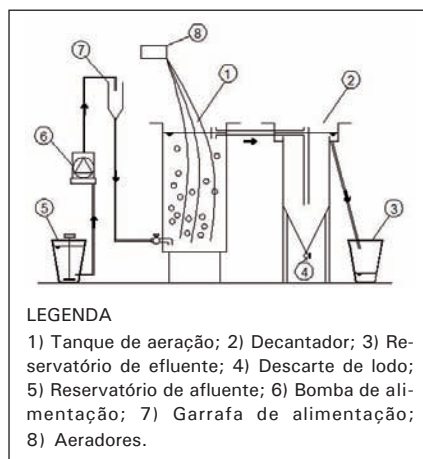
Foi projetado um reator cilíndrico, com volume total de 113 L, altura de 58 cm e diâmetro de 51 cm, fabricado em fibra de vidro, com dois registros de  $\frac{3}{4}''$ , localizados na parte inferior, para controle do funcionamento do reator. O RBF funcionava em escoamento ascendente, com biomassa imobilizada em espuma de poliuretano com densidade de  $53,55\text{ kg/m}^3$  (cubos de aproximadamente 3 cm de aresta). Após o reator, havia um decantador cilíndrico em fibra de vidro com volume útil de 57 L. Nas Figuras 9 e 10, pode-se visualizar o esquema simplificado de funcionamento e uma fotografia do sistema RBF-decantador.

O RBF era continuamente aerado com a utilização de oito microaeradores. Após o 45<sup>o</sup> dia de operação, foram utilizados dezoito aeradores de aquário (vazão de  $2,0\text{ L/min}$  de ar cada) e, a partir do 180<sup>o</sup> dia de operação, foi utilizado apenas um compressor radial, cuja vazão era de  $1,5\text{ m}^3/\text{min}$ . As mangueiras de oxigenação foram colocadas durante a inoculação do reator.

Escolheu-se a espuma de poliuretano como meio suporte, pois segundo Zaiat (1996), esse material possui baixa densidade, alta porosidade interna, estabilidade à hidrólise, difícil degradação biológica e capacidade de confinamento de microrganismos, o que a torna adequada para este fim. Além disso, a espuma de poliuretano tem

sido utilizada com êxito em diversas pesquisas (FELIX, 2005; FREITAS NETO, 2005; MIELGO, 2002; D'ANNIBALE et al., 1998; VASSILEV et al., 1997; SANTOS, 2005), apresentando bons resultados quando aplicada em reatores de leito fixo para tratamento de águas residuárias de origens variadas.

O volume útil do reator foi determinado através da alocação do meio suporte e adição de água até extravasar pela saída para efluente tratado. Como resultado, o volume ocupado pela espuma foi de 13 L, portanto, o volume útil do reator era de 100 L.



**Figura 9.** Esquema simplificado de funcionamento do sistema RBF-decantador(B).



**Figura 10.** Foto do sistema RBF-decantador(B).

## Partida do RBF

Para inoculação, foram preparados 100 L de uma solução composta por: 40,0 g/L de açúcar comum (adotado para simular a concentração de açúcares no LCCV), 0,28 g de  $\text{NH}_4\text{Cl}/\text{L}$ ; 0,25 g de  $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{L}$ ; 0,1g de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}/\text{L}$ ; 0,01g de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}/\text{L}$ ; 1mL da solução de micronutrientes descritos na Tabela 2.

Após o preparo da solução, em recipientes de 20 L, o pH foi corrigido para 4,0, utilizando-se ácido sulfúrico. Em seguida foram adicionados  $2 \times 10^6$  esporos de *Aspergillus niger* AN 400/mL. O passo seguinte foi colocar, alternadamente, o meio suporte e a solução de açúcar, nutrientes e fungos. Por último, foi encaixado, no RBF, um anteparo (com perfurações de 0,5 cm), em fibra de vidro, localizado 8,5cm abaixo da saída para efluente tratado. A função do anteparo era reter o meio suporte impossibilitando a saída juntamente com o efluente.

O reator permaneceu em repouso durante 24h. Após esse período foi iniciada a aeração, utilizando-se seis aeradores de aquário, e a recirculação do efluente do reator, por meio de bomba de diafragma LMI Milton Roy modelo P133-398TI. Após o 7º dia, o decantador foi conectado ao RBF e foi iniciada a alimentação do RBF. O afluente era armazenado em reservatório de 20 L, conservado em geladeira a 5 °C e recalcado para uma garrafa de alimentação localizada acima do reator, que funcionava como reservatório de passagem do sistema, viabilizando o controle da vazão. Na garrafa, foi adaptada uma mangueira de ½'' que era conectada ao registro localizado na extremidade inferior do RBF.

O afluente ao sistema entrava pela região inferior do RBF e saía pela parte superior do reator para o decantador, por meio de um tubo de PVC (75 mm). A tubulação oriunda do RBF despejava o efluente, no decantador a 15 cm do fundo. O efluente do sistema era coletado por calhas e, conduzido para um reservatório com capacidade de 12 L.

### **Operação do RBF**

A operação do RBF foi realizada durante 274 dias e foi dividida em duas fases. Durante a Fase 1, foi utilizado LCCV bruto como afluente e a operação era realizada sem retirada do excesso de biomassa do RBF. O TDH era de 12 e 6 dias, para o RBF e o decantador, respectivamente.

A Fase 2 foi dividida em Etapas A e B. Nas duas Etapas, o afluente ao RBF era LCCV bruto diluído em água, na proporção de 1:1. Além disso, foi retirado do reator o anteparo descrito no item 4.3.4. O TDH

do sistema foi mantido. No entanto, o RBF, apenas durante a Etapa B, foi operado com descartes semanais de biomassa que crescia na parte superior do reator, sem retirada dos meios suportes. Esta operação foi empírica, sendo verificado apenas o peso da biomassa retirada. Na Tabela 8, são apresentadas as variáveis da operação do RBF durante a pesquisa.

**Tabela 8.** Variáveis da operação do RBF durante a pesquisa.

| Variável                          | Fase 1              | Fase 2              |                     |
|-----------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|                                   |                     | Etapa A             | Etapa B             |
| Duração (dias)                    | 116                 | 96                  | 62                  |
| DQO teórica (mg/L)                | 60.000              | 30.000              | 30.000              |
| COV (kg DQO/m³.d)                 | 5,0                 | 2,5                 | 2,5                 |
| TDH total (h) <sup>(1)</sup>      | 18                  | 18                  | 18                  |
| Vazão afluente (L/d)              | 8,20                | 8,20                | 8,20                |
| Afluente                          | LCCV <sup>(2)</sup> | LCCV <sup>(3)</sup> | LCCV <sup>(4)</sup> |
| Descarte de biomassa <sup>3</sup> | não                 | não                 | sim                 |

Notas: <sup>(1)</sup>Somatório do TDH do RBF(12d) e decantador (6d).<sup>(2)</sup>LCCV bruto sem diluição.<sup>(3)</sup>LCCV bruto diluído em água proporção 1:1. <sup>(3)</sup>Descartes do excesso de biomassa.

Os valores adotados de COV foram baseados em pesquisas realizadas com reatores de biofilme tratando efluentes industriais (GONÇALVES, 2001; FÉLIX, 2005; GIFFONI, 2000; KYRIACOU et al., 2005).

**Monitoramento do RBF**

As coletas de amostras do afluente e efluente do RBF eram realizadas três vezes por semana. O programa de monitoramento do efluente do RBF foi realizado segundo amostragem composta, durante período de 24h. O efluente era coletado na saída do decantador e armazenado em reservatório mantido sob refrigeração a 5 °C.

O monitoramento incluiu as determinações físico-químicas das seguintes variáveis: pH, DQO e taninos totais, do afluente e efluente do sistema RBF-decantador.



A Tabela 9 apresenta o programa de monitoramento com as variáveis determinadas, frequências e métodos utilizados durante o monitoramento do RBF.

**Tabela 9.** Variáveis determinadas e frequências realizadas durante o monitoramento do afluente e efluente do RBF.

| Variável         | Método                                     | Afluente           | Efluente           |
|------------------|--|--------------------|--------------------|
| pH               | Potenciométrico                            | 3 vezes por semana | 3 vezes por semana |
| DQO              | Espectrofotométrico                        | 3 vezes por semana | 3 vezes por semana |
| Taninos totais   | Espectrofotométrico                        | 3 vezes por semana | 3 vezes por semana |
| Série de sólidos | Evaporação a 105°C e Volatilização a 550°C | eventual           | eventual           |

As medições de oxigênio dissolvido (OD) foram realizadas diretamente no RBF e no decantador, utilizando um oxímetro portátil marca YSI, modelo F-1550A. As medições eram realizadas duas vezes por semana, sendo os valores obtidos ajustados por um fator de correção de salinidade informado pelo fabricante do aparelho.

As determinações de DQO foram realizadas segundo os procedimentos descritos no “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” (AMERICAN..., 2005) método 5220B.

As medidas de pH foram realizadas com pHmetro da Tecnal, modelo R-TEC-03P-MP segundo os procedimentos descritos no “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” (AMERICAN..., 2005) método 4500 H + B. As determinações de taninos totais foram realizadas segundo o método descrito por Lowry et al. (1947).

As determinações da série de sólidos foram realizadas segundo os procedimentos descritos no “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” (AMERICAN..., 2005) métodos 2540B, 2540F, 2540C.

Foi realizada, no último dia de operação, uma análise de açúcares totais e redutores do afluente e efluente do RBF, sendo seguida a metodologia descrita por Miller (1959).

Foram realizadas duas análises microbiológicas do material celular do RBF. A primeira ocorreu no 120º dia de operação e foi realizada no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Agroindústria Tropical (Fortaleza, CE), utilizando-se o método de espalhamento por plaqueamento. A segunda foi realizada no 170º dia e foi realizada no Laboratório Integrado de Águas de Mananciais e Residuárias (LIAMAR/CEFET-CE) por meio da observação da morfologia e crescimento apical, segundo o método da coloração por azul de metileno, descrito por Myrvik e Weiser (1988).

O *software* utilizado para as análises estatísticas foi o Graphpad Prism® versão 5.0. Para a avaliação dos resultados foram realizadas análises de variância (ANOVA), com grau de significância de 95% ( $\alpha < 0,05$ ).

## Resultados e Discussão

### Caracterização do LCCV

Os resultados da caracterização preliminar do LCCV e os obtidos durante a pesquisa estão apresentados na Tabela 10.

Os valores médios das concentrações de DQO e alcalinidade total (AT) resultaram na relação AT/DQO de 0,015. Para que ocorra eficiente degradação e controle da digestão anaeróbia, os afluentes em sistemas anaeróbios devem apresentar taxa de 1g AT/g DQO (Lema, 1997). Assim, para que fossem evitados problemas de acidificação no reator UASB, durante toda a pesquisa foram adicionados alcalinizantes ao afluente do UASB.

A taxa  $DBO_5$ /DQO do LCCV apresentou valor de 0,66, que indicou boa biodegradabilidade desse tipo de efluente, quando comparada a esgotos domésticos que possuem esta taxa variando de 0,4 a 0,8 (METCALF e EDDY, 2003).

Considerando as amostras analisadas, a relação DQO:N:P foi igual a 510:6:1. Portanto, não seria necessária para tratamento biológico do LCCV a suplementação com nitrogênio e fósforo. Conforme recomendação de Cherchinaro (1997) a relação 500:5:1 de DQO:N:P é suficiente para atender às necessidades de macronutrientes dos microrganismos em sistemas biológicos. Portanto, o afluente do RBF não foi suplementado com nutrientes durante a pesquisa. Já o afluente do UASB foi suplementado com nutrientes até a Etapa III visando à manutenção de nutrientes em excesso, evitando assim riscos às atividades das bactérias enquanto era realizada a transição dos afluentes.

Tabela 10. Caracterização do LCCV.

| Variável                        | Unidade | Metodologia            | Nº de amostras | Média     | Desvio padrão |
|---------------------------------|---------|------------------------|----------------|-----------|---------------|
| DBO5 <sup>(1)</sup>             | mg/L    | Incubação              | 2              | 4,12 E+04 | -             |
| DQO <sup>(2)</sup>              | mg/L    | Espectrofotométrico    | 60             | 6,35E+04  | 12,03 E+03    |
| Taninos totais <sup>(2)</sup>   | mg/L    | Espectrofotométrico    | 15             | 5,95 E+03 | 1,01 E+03     |
| Açúcares <sup>(2)</sup>         | mg/L    | Espectrofotométrico    | 2              | 4,51 E+04 | -             |
| Alcalinid. Total <sup>(1)</sup> | mg/L    | Potenciométrico        | 2              | 1,01 E+03 | -             |
| pH <sup>(2)</sup>               | -       | Potenciométrico        | 60             | 4,91      | 0,38          |
| Condutividade <sup>(1)</sup>    | mS/cm   | Condutivimétrico       | 2              | 8,75      | -             |
| Amônia <sup>(1)</sup>           | mg/L    | Destilação             | 2              | 746       | -             |
| Nitrato <sup>(1)</sup>          | mg/L    | Espectrofotométrico    | 2              | 0,42      | -             |
| Nitrato <sup>(1)</sup>          | mg/L    | Titulométrico          | 2              | 66        | -             |
| Fósforo Total <sup>(1)</sup>    | mg/L    | Espectrofotométrico    | 2              | 130       | -             |
| Sólidos Totais <sup>(2)</sup>   | mg/L    | Evaporação a 105 °C e  | 18             | 6,53 E+04 | 1,24 E+03     |
| Sólidos Fixos <sup>(2)</sup>    | mg/L    | Volatilização a 550 °C | 18             | 6,16 E+03 | 438           |
| Sólidos Voláteis <sup>(2)</sup> | mg/L    |                        | 18             | 5,91 E+04 | 1,29 E+03     |

Notas: <sup>(1)</sup>Laboratório de Saneamento da Universidade Federal do Ceará (Labosan).

<sup>(2)</sup>Laboratório de Gestão Ambiental da Embrapa Agroindústria Tropical (LGA).

## Reator UASB

### Análise microbiológica do LCCV autoclavado

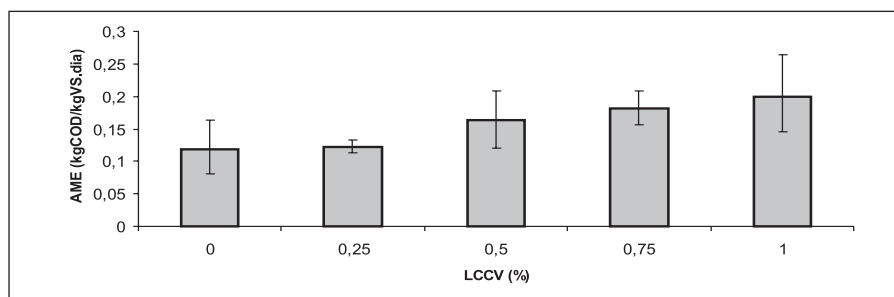
O processo de esterilização do LCCV utilizado durante a pesquisa foi eficiente para exterminação das leveduras, conforme amostras analisadas de LCCV autoclavado e não autoclavado. Os ensaios em placas mostraram que não houve crescimento de leveduras quando foram utilizadas amostras de LCCV autoclavado, enquanto que nos ensaios com amostras *in natura* detectou-se  $5,0 \times 10^6$  NMP/mL (número mais provável de colônias por mililitro).

### Teste de toxicidade metanogênica do LCCV

Na Figura 11, são apresentados os valores médios, máximos e mínimos das AME obtidas durante os testes de toxicidade metanogênica.

Os resultados dos testes de toxicidade metanogênica demonstraram que o LCCV não provocou efeitos tóxicos às bactérias metanogênicas presentes no lodo do UASB. Além disso, observou-se que os valores das AME dos reatores com LCCV foram próximos ou superiores aos obtidos nos reatores com acetato e propionato.

Uma hipótese para o aumento da AME nos reatores com LCCV seria a ação da glicose (naturalmente presente no LCCV) como cossubstrato nos processos de degradação da matéria orgânica (incluindo taninos). Os testes realizados utilizando glicose como substrato apresentaram valores de AME similares aos obtidos nos reatores com LCCV.



**Figura 11.** Valores médios, máximos e mínimos das AME observadas durante os testes de toxicidade metanogênica para os reatores 0%, 25%, 50%, 75% e 100% LCCV. As barras de erros indicam os valores máximos e mínimos.

Outra hipótese levantada seria a ação das quinonas como catalisadores das atividades das bactérias. Para tanto, ainda são necessárias pesquisas para confirmação e identificação das quinonas presentes no LCCV bem como a ação desses compostos como catalizadores da atividade metanogênica. Quinonas têm estrutura semelhante à dos taninos, que estão presentes no LCCV. Esses compostos agem como mediadores redox, transferindo elétrons do metabolismo anaeróbio de substratos para redução de compostos recalcitrantes (CERVANTES et al., 2003).

As análises cromatográficas do biogás produzido durante o teste de toxicidade, utilizando-se 100% LCCV resultaram em 70% de metano, 25% de dióxido de carbono, 0,5% de nitrogênio e 4,5% de gases traços, o que está dentro da faixa esperada para esse tipo de teste (VAN HAANDEL; LETTINGA, 1994). Isso demonstra que possivelmente não ocorreu crescimento de leveduras nos reatores, visto que o percentual de CO<sub>2</sub> foi muito inferior ao metano, o que demonstrou predominância das atividades das bactérias metanogênicas durante os testes. Ratificando que a autoclavagem foi eficiente para a esterilização do LCCV.

Field e Lettinga (1987) realizaram testes de toxicidade metanogênica utilizando lodo granular, demonstrando que taninos hidrolisáveis são tóxicos para a atividade metanogênica. Os autores utilizaram 4,17gDQO/L de um substrato composto de AGV (acetato, propionato e butirato proporção 1:1:1) e 700 mg/L de ácido galatânico. A concentração de lodo nas garrafas era de 1,11g SV/L. O teste resultou em 50% de inibição da AME, quando comparada ao reator que continha apenas AGV como substrato. A inibição por ácido galatânico foi 20% menor quando os autores utilizaram apenas acetato e propionato como substrato.

Por outro lado, os resultados encontrados por Fernandez et al. (2001) mostraram que sistemas anaeróbios podem tratar efluentes com taninos, obtendo-se lodo anaeróbio com AME elevada. Esses autores realizaram testes de AME no lodo de um reator UASB utilizado no tratamento de efluentes da indústria de manufatura de fibras com elevada toxicidade devido aos taninos. As AME foram realizadas ao longo do perfil do lodo do reator sendo observado 0,8 kgDQO/kgSV.d para a amostra coletada na manta de lodo do reator. Isto demonstrou

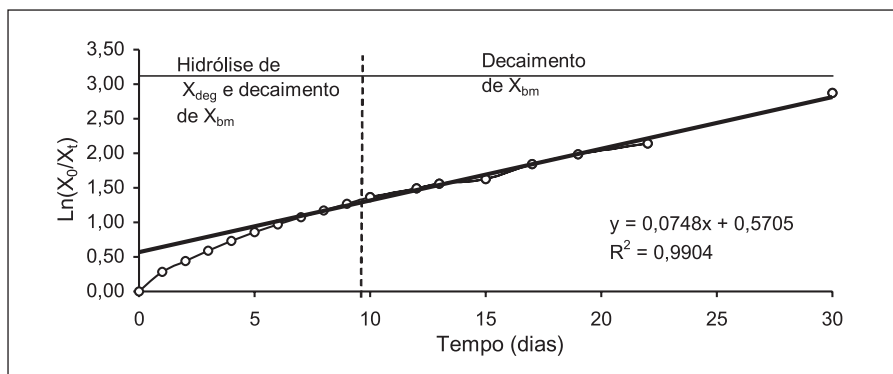
que o reator estava bem adaptado ao efluente em questão. No entanto, não foram informadas as concentrações, bem como as características dos taninos no efluente.

### Biodegradabilidade e estabilidade anaeróbia do lodo

Os resultados do ensaio de biodegradabilidade do lodo produzido no reator UASB demonstraram que apenas 7,2% da matéria orgânica do lodo utilizado era biodegradável, em um prazo de trinta dias.

De acordo com Seghezzo et al. (1998), o decaimento celular ocorre de acordo com uma cinética de primeira ordem. Utilizando a metodologia descrita por Mgana (2003), pôde-se estimar a taxa de decaimento mediante a linearização da curva de produção acumulada de metano durante o teste de biodegradabilidade anaeróbia do lodo (Figura 12).

Assim, os resultados demonstraram que a primeira parte da curva da Figura 12 não se adequou à produção linear de metano. Essa discrepância pode ser interpretada como uma degradação da matéria orgânica facilmente biodegradável ( $X_{deg}$ ) em adição ao decaimento da biomassa (MGANA, 2003).



**Figura 12.** Linearização da curva de produção acumulada de metano durante o teste de biodegradabilidade anaeróbia do lodo. Em que:  $X_0$  é o total degradado das frações de sólidos suspensos do lodo ( $X_{deg}$ ) somado a  $X_{bm}$  (decaimento das bactérias) e  $X_t$  é a degradação acumulada de  $X_{deg} + X_{bm}$  em qualquer dia do ensaio.

O valor do coeficiente de decaimento ( $K_d = 0,0748d^{-1}$ ), obtido na equação do gráfico da Figura 12, ficou acima dos valores informados por Batstone et al. (2002), que sugerem a faixa de 0,004 a 0,050/d como a biodegradabilidade representativa da produção de metano devida a decaimento de biomassa. Isso, provavelmente, ocorreu devido ao tempo de detenção celular muito elevado que foi mantido no reator UASB desta pesquisa (100 dias).

## Operação do reator UASB

### COV, DQO e biogás

A COV foi aumentada ao longo da operação do reator UASB, até atingir os valores de dimensionamento, como se pode visualizar na Tabela 11. O UASB apresentou durante as etapas de operação eficiência elevada de remoção de DQO, sendo os valores médios, mínimos, máximos, número de determinações e desvios-padrão apresentados na Tabela 12.

Até a Etapa III, os valores das COV aplicadas ao UASB foram próximos aos esperados teoricamente. No entanto, problemas operacionais diversos tornaram difícil o controle da DQO e da vazão de afluentes, a partir da Etapa IV.

**Tabela 11.** Concentrações médias, mínimas, máximas, número de determinações (ND) e desvios-padrão (DP) de DQO determinadas no afluente e efluente do UASB durante as etapas de operação.

| Etapa | Amostra  | Média | Mínima | Máxima | ND | DP     |
|-------|----------|-------|--------|--------|----|--------|
|       |          |       | (mg/L) |        |    | (mg/L) |
| I     | Afluente | 1357  | 1123   | 1625   | 9  | 188    |
|       | Efluente | 209   | 120    | 413    | 9  | 95     |
| II    | Afluente | 1423  | 572    | 3278   | 14 | 653    |
|       | Efluente | 149   | 93     | 351    | 14 | 63     |
| III   | Afluente | 3121  | 676    | 7027   | 40 | 1758   |
|       | Efluente | 585   | 161    | 2053   | 40 | 490    |
| IV    | Afluente | 7578  | 6331   | 9930   | 3  | –      |
|       | Efluente | 1539  | 900    | 1953   | 3  | –      |
| V     | Afluente | 17295 | 9432   | 35733  | 5  | 10985  |
|       | Efluente | 2419  | 1510   | 3883   | 5  | 1015   |
| VI    | Afluente | 53471 | 31474  | 74300  | 4  | 19277  |
|       | Efluente | 8754  | 2688   | 14200  | 4  | 5717   |

**Tabela 12.** Eficiências médias, máximas, mínimas, número de determinações (ND) e desvios-padrão (DP) observadas para remoção de DQO durante as etapas de operação do UASB.

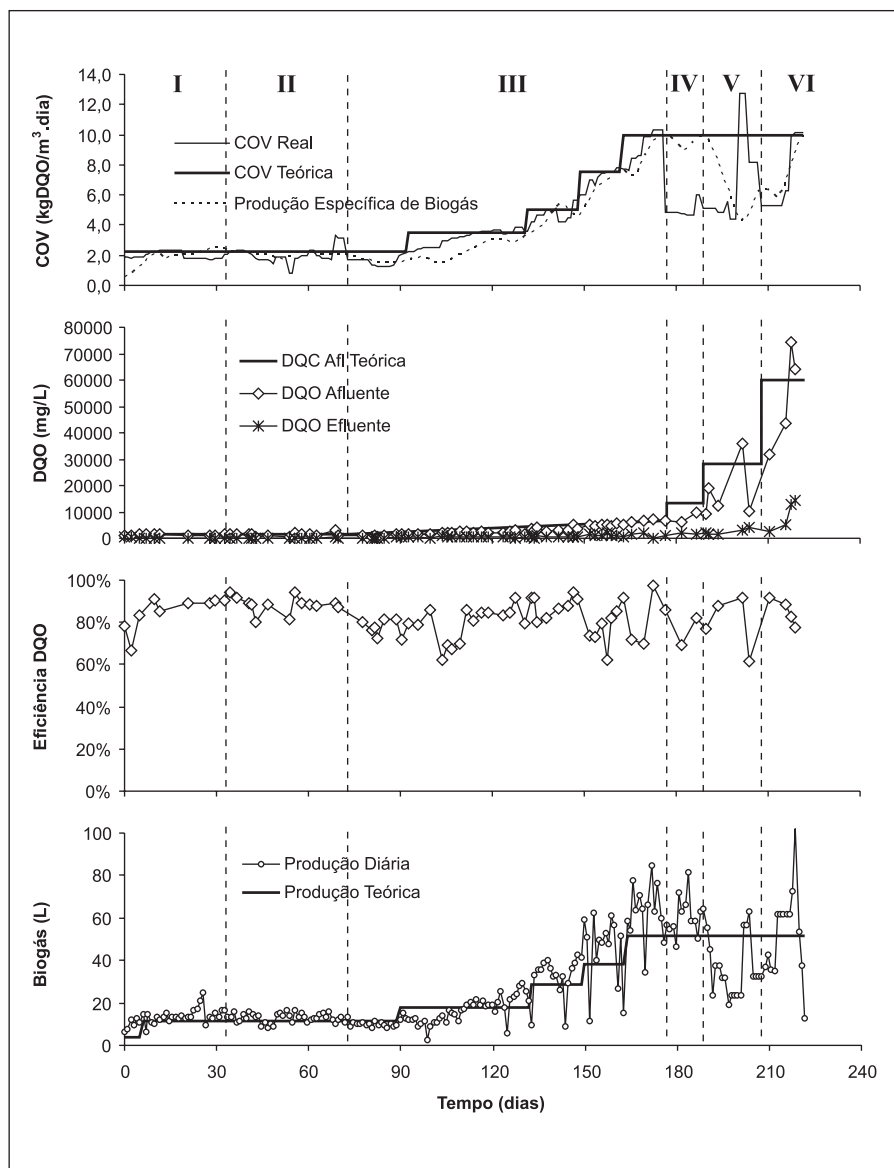
| Etapa | Média | Mínima<br>(%) | Máxima | ND | DP<br>(%) |
|-------|-------|---------------|--------|----|-----------|
| I     | 84,2  | 66,9          | 91,2   | 9  | 8,3       |
| II    | 88,6  | 80,2          | 94,4   | 14 | 3,9       |
| III   | 80,6  | 62,4          | 97,7   | 40 | 8,6       |
| IV    | 79,2  | 69,2          | 86,1   | 3  | –         |
| V     | 79,5  | 61,3          | 91,6   | 5  | 13,5      |
| VI    | 85,0  | 77,9          | 91,5   | 4  | 6,1       |

Essa variação da vazão ocorreu devido à elevada concentração de sólidos suspensos característicos do LCCV. Esses sólidos acumulavam-se nas tubulações anteriores à bomba, diminuindo a vazão ou causando entupimento. Apesar disso, o reator UASB apresentou alta robustez. Até o final da Etapa III, mesmo com um aumento da COV em aproximadamente cinco vezes, o efluente manteve-se em média abaixo de 600 mg DQO/L, fazendo com que a eficiência ficasse acima de 80%.

A partir da Etapa IV, quando o reator foi operado com plena carga (COV de 10 kg DQO/m<sup>3</sup>.d), o reator apresentou alguns distúrbios no efluente e na produção de biogás. Isto se deveu principalmente à mudança da fonte de LCCV. Até a Etapa III, o LCCV era produzido na própria Embrapa, em uma planta piloto de beneficiamento da casca do coco-verde. Posteriormente, o LCCV foi trazido da Usina localizada no bairro do Jangurussu. Possivelmente, este último LCCV era diluído durante o processamento da casca do coco-verde.

Na Figura 13, são apresentadas as variações da COV (medida e de projeto), produção específica de biogás, concentrações teóricas de DQO no afluente, concentrações de DQO no afluente e efluente, eficiências de remoções de DQO e produção de biogás, monitorados durante a operação do UASB.





**Figura 13.** Variação da COV (medida e de projeto), produção específica de biogás, concentrações teóricas de DQO no afluente, concentrações de DQO no afluente e efluente, eficiências de remoções de DQO, alcalinidade total e AGV no efluente observados durante a operação do UASB.

A produção específica de biogás, que mostra o quanto da carga aplicada está realmente sendo convertida em metano, manteve-se muito próxima a COV, mostrando que o reator conseguiu se manter estável durante a operação. Quando operado com carga de projeto, a produção média de biogás foi de 50 L/dia, coerente com o valor de 51 L/dia obtido a partir do balanço de massa efetuado (Equação 2).

Os valores médios dos resultados obtidos nas duas análises cromatográficas realizadas no biogás produzido pelo reator UASB são: metano = 75%; dióxido de carbono = 20%; nitrogênio = 2%; outros gases = 3%. Essa composição apresentou valores condizentes com os observados em variados sistemas anaeróbios tratando efluentes industriais (RAZO-FLORES et al., 1997).

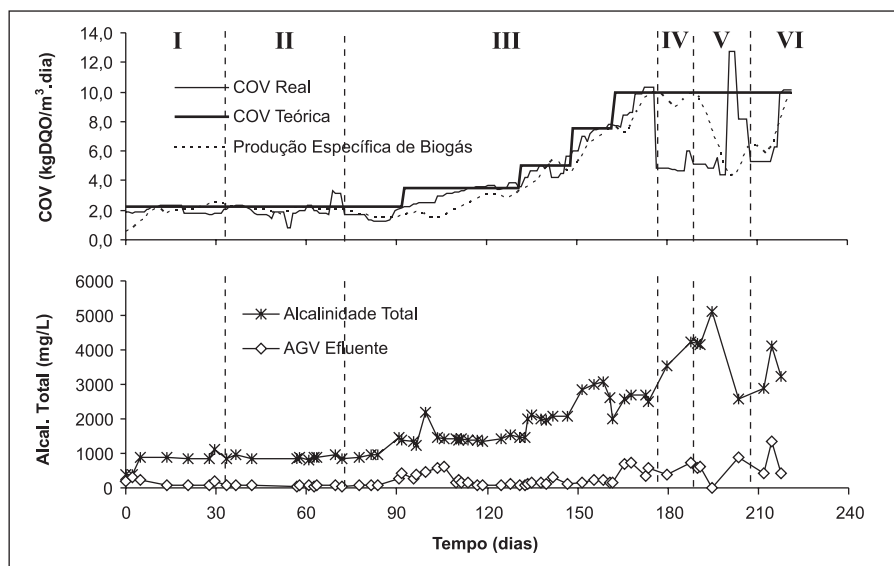
#### **Alcalinidade total e ácidos graxos voláteis**

Assim como a eficiência de DQO e produção de biogás, as variações da alcalinidade total e ácidos graxos voláteis (AGV) determinadas no efluente (Figura 14) também comprovaram que o UASB se manteve estável durante a operação. Para efeito didático, nas Figuras 14, 15 e 16, também será apresentado o gráfico com a variação da COV do reator UASB, que possibilitará a avaliação do comportamento desse reator durante as diversas etapas operacionais.

Durante a operação do UASB verificou-se que, a cada elevação da COV, ocorria um breve aumento das concentrações de AGV no efluente, que é justificado pela maior velocidade das atividades acidogênicas em relação às acetogênicas e metanogênicas (VAN HAANDEL; LETTINGA, 1994). Contudo, após curto período, as concentrações de AGV no efluente do UASB voltavam a apresentar valores próximos aos verificados anteriormente.

Alterações semelhantes nas concentrações de AGV efluente ocorreram na pesquisa desenvolvida por Leitão (2004), que operou um reator UASB para tratamento de efluente sintético e observou que, a cada aumento da COV, a concentração de AGV no efluente aumentava. Porém, após período médio de cinco a quinze dias, o equilíbrio entre os processos de digestão anaeróbia eram restabelecidos.

Além da elevação da carga durante a operação do UASB, algumas modificações na dosagem de bicarbonato no afluente provocaram breves aumentos na concentração de AGV no efluente. Pode-se visualizar, ainda, na Figura 14, que a partir do 130º dia de operação do UASB (Etapa III), ocorreram incrementos na concentração de AT no efluente do UASB, que foram motivados pelo aumento da concentração de DQO afluente e coerente elevação da adição de bicarbonato ao afluente, pois era mantida a razão de  $1\text{gNaHCO}_3/1\text{gDQO}$  Afluente.



**Figura 14.** Variação da alcalinidade total e AGV no efluente durante a operação do UASB.

Durante a Etapa IV, apesar da utilização de cal hidratada, que apresenta solubilidade inferior ao bicarbonato de sódio utilizado anteriormente como alcalinizante, foram mantidas as concentrações almeçadas de AT. No entanto, durante as Etapas V e VI, essas concentrações não foram alcançadas, visto que as dosagens de cal hidratada no afluente do UASB foram realizadas de forma equivocada.

Durante a operação do UASB, as variações das concentrações de AGV no efluente eventualmente apresentaram valores superiores a 500 mgAGV/L, o que poderia demonstrar uma possível instabilidade do reator.

Seghezzo et al. (1998), mencionam que os parâmetros usados frequentemente para monitorar a estabilidade de reatores anaeróbios são a manutenção da eficiência de remoção de DQO superior a 80%, produção estável de biogás e, ainda mais importante, a razão entre AGV e alcalinidade a bicarbonato (AB), pois o sucesso da operação depende da manutenção de concentrações adequadas de bicarbonato e impedimento de concentrações excessivas de ácidos voláteis. Assim, a razão AGV/AB tem sido utilizada para monitoramento dos processos metabólicos envolvidos na digestão anaeróbia, considerando-se valores de 0,10 a 0,35 como típicos de digestores bem operados (BEHLING et al., 1997; FONGASTITKUL et al. 1994; e RIPLEY et al., 1986))

Portanto, o UASB manteve-se estável durante a operação, visto que a razão AGV/AB manteve-se abaixo de 0,30, a eficiência média de remoção de DQO foi superior a 80% e a produção média de biogás foi estável durante esse período.

### **Taninos totais**

Na Tabela 13, são apresentadas as concentrações médias, mínimas, máximas, número de determinações e desvios-padrão de taninos totais no afluente e efluente do reator UASB durante as etapas da operação. Os valores médios, mínimos, máximos, número de determinações e desvio-padrão de remoção de taninos totais observados durante as etapas de operação do UASB são apresentados na Tabela 14. Na Figura 15, são apresentadas as variações de taninos totais no afluente e efluente, bem como a eficiência de remoção de taninos totais observadas durante as etapas de operação do UASB.

Pode-se observar, na Figura 15, que o UASB removeu parcialmente os taninos totais presentes no afluente. Vijayaraghavan e Murthy (1997) empregaram reatores anaeróbios de leito fixo em série (escala de bancada) para degradar efluentes de curtume.

**Tabela 13.** Concentrações médias, mínimas, máximas, número de determinações (ND) e desvios-padrão (DP) de taninos totais determinadas no afluente e efluente do UASB durante as etapas da operação.

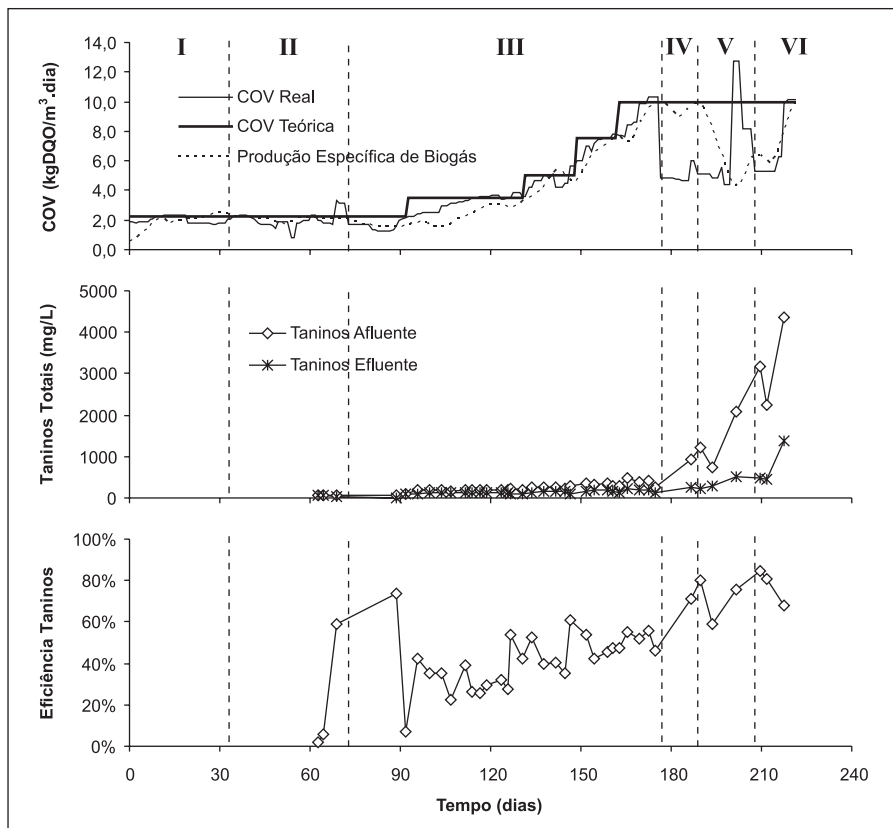
| Etapa            | Amostra  | Média  | Mínima | Máxima | ND | DP |
|------------------|----------|--------|--------|--------|----|----|
|                  |          | (mg/L) |        |        |    |    |
| I <sup>(1)</sup> | Afluente | –      | –      | –      | –  | –  |
|                  | Efluente | –      | –      | –      | –  | –  |
| II               | Afluente | 62     | 56     | 68     | 3  | –  |
|                  | Efluente | 49     | 23     | 64     | 3  | –  |
| III              | Afluente | 244    | 51     | 472    | 28 | 94 |
|                  | Efluente | 137    | 14     | 213    | 28 | 39 |
| IV               | Afluente | 925    | 925    | 925    | 1  | –  |
|                  | Efluente | 266    | 266    | 266    | 1  | –  |
| V                | Afluente | 1349   | 744    | 2093   | 3  | –  |
|                  | Efluente | 350    | 239    | 506    | 3  | –  |
| VI               | Afluente | 3254   | 2241   | 4348   | 3  | –  |
|                  | Efluente | 1388   | 433    | 766    | 3  | –  |

Nota: <sup>(1)</sup> Não foram realizadas análises de taninos totais nesta etapa.

**Tabela 14.** Eficiências médias, máximas, mínimas, número de determinações (ND) e desvio-padrão (DP) observadas para remoção de taninos totais durante as etapas de operação do UASB.

| Etapa            | Média | Mínima | Máxima | ND | DP   |
|------------------|-------|--------|--------|----|------|
|                  | (%)   |        |        |    |      |
| I <sup>(1)</sup> | –     | –      | –      | –  | –    |
| II               | 22,1  | 1,6    | 58,7   | 3  | –    |
| III              | 41,7  | 7,3    | 73,4   | 28 | 13,6 |
| IV               | 71,2  | 71,2   | 71,2   | 1  | –    |
| V                | 71,7  | 59,1   | 80,2   | 3  | –    |
| VI               | 77,9  | 68,1   | 84,9   | 3  | –    |

Nota: <sup>(1)</sup> Não foram realizadas análises de taninos totais nesta etapa.



**Figura 15.** Variação de taninos totais no afluente, efluente e eficiência de remoção de taninos totais durante as etapas de operação do UASB.

Os TDH aplicados foram 36, 48 e 60h, com efluente bruto apresentando DQO variando de 1.500 a 16.500 mgDQO/L. A maior eficiência de remoção de DQO, variando de 52 a 89% e COV de 5,0 kgDQO/m³.d, foi observada quando as concentrações no afluente eram inferiores a 2.000 mg/L de taninos totais. Concentrações superiores a 2.000 mg/L de taninos totais provocaram decréscimo de 40% na remoção de DQO. Vijayaraghavan e Ramanujam (1999) demonstraram a toxicidade dos taninos condensados a sistemas anaeróbios. Os autores aplicaram um sistema constituído por dois filtros anaeróbios em série, de fluxo

ascendente, para tratamento de efluente de curtume. No experimento em escala de laboratório, foram aplicados 3 TDH. Para o TDH de 60h, e COV de 5,6 kgDQO/m<sup>3</sup>.d, a eficiência de remoção de DQO diminui de 80 para 60% quando o afluente apresentava 1.050 mg taninos/L. Quando o TDH era de 48h e 920 mg taninos/L afluente, a remoção de DQO diminui de 60% para 40% e, para TDH de 24h e 790 mg taninos/L afluente a remoção de DQO diminuiu de 40% para 20%. Esses autores atribuíram à presença de taninos condensáveis a diminuição na remoção de DQO, devido à capacidade que os taninos têm de formar ligações mais fortes (por meio de pontes de hidrogênio), às proteínas funcionais das bactérias, em relação às ligações que essas proteínas normalmente teriam com monômeros mais simples como o acetato. Assim, as bactérias ficariam impossibilitadas de utilizarem qualquer forma de substrato e acabariam entrando em decaimento.

A hipótese levantada por Vijayaraghavan e Ramanujam (1999) de que a presença de taninos condensados impede a utilização de substratos foi confirmada por López-Fiuza et al. (2003). Estes últimos autores confirmaram que taninos hidrolisáveis, por apresentarem menor peso molecular, são compostos mais suscetíveis à degradação anaeróbia, portanto, menos tóxicos, quando comparados aos taninos condensáveis.

O trabalho de Vidal et al. (2001) demonstrou a ineficiência de um reator UASB empregado para tratamento do efluente de uma indústria de celulose. A água residuária apresentava baixas concentrações de DQO variando de 800 a 1.900 mg/L e taninos e ligninas (TL) na faixa de 44 a 64 mg/L, quando comparados ao LCCV. O reator em escala de laboratório foi operado com aumento gradual da COV de 1,7 para 3,1 kgDQO/m<sup>3</sup>.d. Durante o período de operação (350 d), as remoções de DQO variaram de 33% a 36% e de 10 a 29% para TL. Ao final da operação, os autores verificaram que o lodo presente no UASB era muito floculento, visto que o reator foi operado sem recirculação do efluente que resultou em velocidades ascensionais baixas. Portanto, segundo esses autores, a não formação de lodo granular durante a operação do UASB explicaria as baixas remoções de DQO e TL observadas.

O tratamento anaeróbio de efluentes contendo taninos exige algumas condições operacionais específicas. Veeresh et al. (2005) recomendaram a utilização de reatores UASB para tratamento de efluentes que contenham compostos fenólicos, desde que sejam aplicadas algumas estratégias de operação, como aumento gradual da COV, substituição gradual do substrato ideal (AGV, glicose, metanol) por fenóis bem como diluição do afluente. Além desses procedimentos, durante o tratamento anaeróbio de compostos fenólicos, a utilização de lodo granular, adequada aclimatização do inóculo, recirculação do efluente tratado e suplementação do afluente com cossustratos, como a glicose e AGV.

Mehrotra et al. (2003) participaram de uma pesquisa que demonstrou que a utilização de glicose como cossustrato foi mais eficiente que AGV para remoção de fenóis durante o tratamento anaeróbio de efluentes contendo estes últimos compostos citados. Nessa pesquisa, foram utilizados dois reatores UASB (1 e 2), sendo que, ao UASB-1, foi adicionado e utilizado como substrato no afluente, além dos fenóis, 1g/L de Glicose. No UASB-2, o substrato era composto de AGV e fenóis. Ambos os reatores foram operados com COV de 8,0 kg DQO/m<sup>3</sup>.d e TDH de 12h. O afluente aos reatores apresentava 2,8 g DQO/L e 1,2 g/L de fenóis. O UASB-1 apresentou remoções médias de 98% e 87% para DQO e fenóis, respectivamente. Já o UASB-2 alcançou remoções médias de 88% e 81% para DQO e fenóis, respectivamente.

Veeresh et al. (2005) concluíram em seu trabalho que reatores UASB podem tratar efluentes com concentrações variando de 1,2 a 3,0 g/L de fenóis (eficiência de remoção de DQO superior a 80%). Caso seja adicionada glicose como cossustrato, a eficiência de remoção de DQO pode subir para 90% e, ainda, ser alcançada a remoção de 98% dos compostos fenólicos presentes na água residuária. Os autores afirmaram que sistemas de tratamento anaeróbio de águas residuárias com compostos fenólicos, bem como as vias metabólicas da atuação de cossustratos nesses sistemas, ainda estão em estágio de desenvolvimento.



Verifica-se que é benéfica a atuação de cossubstratos em sistemas anaeróbios. Substratos de difícil degradação podem ser eficientemente degradados na presença de um substrato de fácil degradação (cometabolismo). O cossubstrato é necessário quando um composto recalcitrante não é apto a servir como fonte de energia para o crescimento das bactérias. O processo anaeróbio de transformação de material orgânico em metano é realizado mediante a produção de precursores de metano. A atividade metanogênica das bactérias, durante o tratamento anaeróbio de águas residuárias que apresentam compostos fenólicos, é mantida ativa quando são adicionados, ou estão presentes no efluente, cossubstratos como a glicose, sacarose, AGV e metanol.

No entanto, a pesquisa de López-Fiuza et al. (2003) demonstrou que, além da utilização de glicose como cossubstrato, é importante a caracterização das frações de taninos (hidrolisável ou condensado) presentes no efluente aplicado em sistemas anaeróbios de tratamento. Esses pesquisadores operaram três reatores UASB em escala de bancada para verificar a viabilidade de degradação anaeróbia de extratos naturais de taninos. Os reatores R1 e R2 foram alimentados com afluente sintético contendo taninos condensados e R3 com hidrolisáveis. Nos três reatores utilizou-se 5g/L de glicose como cossubstrato e foi mantida a mesma carga orgânica volumétrica (COV) que variou de 2,5 a 3,0 kg DQO/m<sup>3</sup>.d. A remoção de DQO variou de 90% a 100%, bem como remoção de 60 a 90% de taninos hidrolisáveis quando R3 foi operado com 1,0g/L de taninos hidrolisáveis. Quando a concentração de taninos condensáveis no afluente era de 800 mg/L, R1 e R2 apresentaram elevada concentração de AGV no efluente e inibição da atividade, apresentando apenas 20% de remoção de DQO.

Apesar da elevada concentração, em torno de 45.000 mg/L de açúcares (frutose, sacarose e principalmente glicose) naturalmente presentes no LCCV, ainda é prematura a suposição de que esses compostos podem ter atuado como cossubstratos durante o processo de degradação (absorção) anaeróbia dos taninos. Além disso, as

remoções de taninos observadas durante a operação do UASB também podem ter ocorrido por meio da adsorção dos taninos ao lodo granular presente no reator. Portanto, seriam necessárias análises mais sensíveis como espectrofotometria de massa do afluente, efluente e lodo do reator UASB para comprovação do principal processo (absorção ou adsorção) envolvido na remoção de taninos durante a operação do reator UASB com LCCV.

### AME

Os valores obtidos das AME (Figura 16) realizadas durante a operação do UASB encontraram-se dentro da faixa de valores típicos de AME de lodos estritamente anaeróbios, que variam de 0,0001 a 1,5000KgDQO/kgSSV.d (FIELD et al., 1988). No entanto, caso sejam analisadas apenas as COV aplicadas ao UASB, valores maiores de AME eram esperados durante a operação. Esses baixos valores de AME foram justificados pela elevada concentração de DQO no LCCV, que resultou em altas idades do lodo (100 dias).

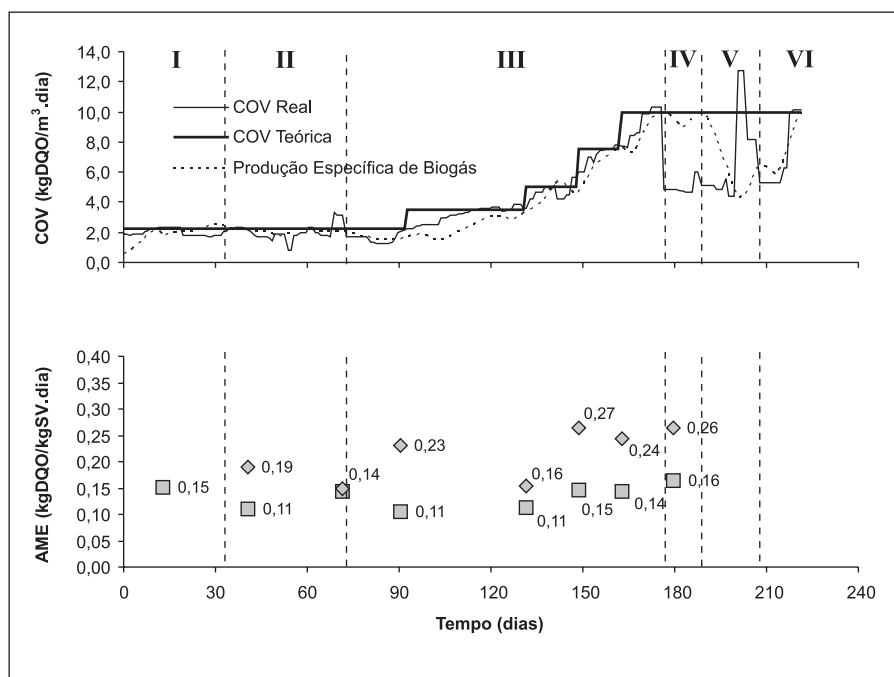
Embora as metodologias empregadas fossem diferentes das utilizadas nesta pesquisa, os trabalhos de Penna (1994) e Mendonça et al. (2003) obtiveram valores de AME superiores aos resultados alcançados nos testes realizados com o UASB durante a operação.

Penna (1994) utilizou como substrato a mistura dos ácidos acético, propiônico e butírico, e encontrou valor médio de AME de 0,1100 kgDQO/kgSVT.d, para lodo de reator de manta de lodo tratando esgoto de uma indústria alimentícia. No mesmo experimento, avaliando a AME das acetogenoclasticas, encontrou valor de 0,1300 kgDQO/kgSVT. A COV aplicada ao sistema em questão era de 7,0 kgDQO/m<sup>3</sup>.d. E não foi informada a idade do lodo utilizado nos ensaios.

Mendonça et al. (2003) realizaram experimento para avaliar a AME de lodos de reatores anaeróbios tratando variados efluentes industriais, e observaram que o lodo anaeróbio de refinação de milho apresentou AME igual a 0,2100 kgDQO/kgSV.d, pouco inferior ao lodo de usina de açúcar (AME = 0,2930 kgDQO/kgSV.d). O lodo de cervejaria

(0,2060 kgDQO/kgSV.d) também apresentou atividade inferior ao lodo de usina de açúcar. Os substratos utilizados foram acetato e propionato (1:1). Os experimentos foram realizados com lodos submetidos a COV variando de 5,0 a 7,0 kgDQO/m<sup>3</sup>.d, não tendo sido, mais uma vez, informadas as idades dos lodos utilizados nos ensaios.

No princípio, era esperado que o LCCV apresentasse toxicidade às atividades das bactérias inoculadas no UASB, porém a estabilidade do reator comprovada pela manutenção da razão AGV/AT inferior a 0,30, produção estável de biogás e as elevadas eficiências de remoção de DQO observadas durante a operação do reator UASB, bem como os resultados dos testes de toxicidade metanogênica demonstraram que o LCCV pode ser tratado em um reator UASB.



**Figura 16.** Variação dos valores obtidos nos testes de AME realizados durante as etapas de operação do UASB.

Sistema de lodos ativados  
Ensaio de toxicidade

Os resultados do teste de toxicidade estão mostrados na Figura 17 e na Tabela 15. Pelos valores observados, o LCCV não causou inibição da atividade microbiológica em nenhuma concentração testada, tanto com LCCV esterilizado quanto com o in natura. Existe uma tendência de aumento do valor máximo de TCOe com aumento da porcentagem de LCCV no teste.

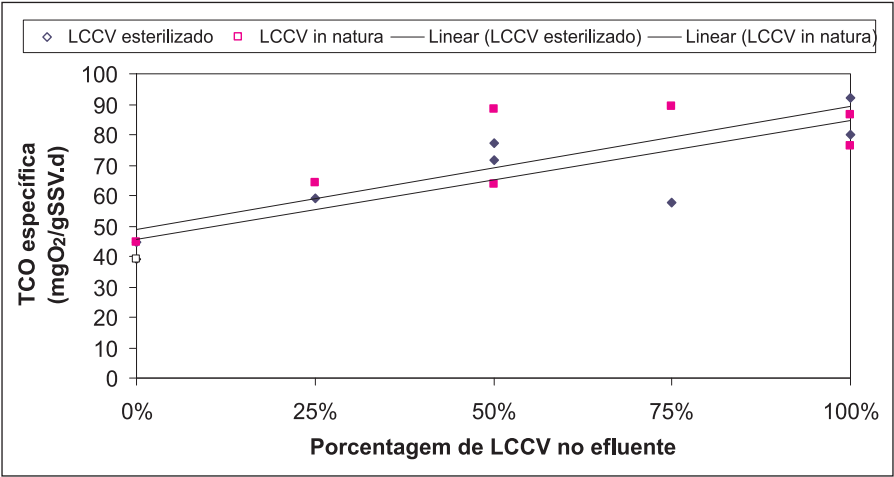


Figura 17. Valores máximos de TCOe para o ensaio de toxicidade

Tabela 15. Valores obtidos de porcentagem de inibição.

| % de LCCV no efluente composto | Amostra      |           |
|--------------------------------|--------------|-----------|
|                                | Esterilizada | In natura |
| 25                             | -51%         | -64%      |
| 50                             | -90%         | -94%      |
| 75                             | -47%         | -129%     |
| 100                            | -120%        | -108%     |

Na análise de regressão observa-se que os dados se ajustam a uma reta (Tabela 16). Os intervalos de confiança para os coeficientes estimados dos dois conjuntos de dados apresentam uma faixa em comum, podendo-se afirmar que os modelos gerados para LCCV esterilizado e para LCCV *in natura* são semelhantes e, conseqüentemente, o tipo de efluente testado não influencia de maneira significativa nos resultados de toxicidade. Como os modelos ajustados para cada tipo de efluente foram semelhantes, um modelo global foi analisado e também se ajustou significativamente a uma reta.

**Tabela 16.** Estimativa dos coeficientes linear e angular pela análise de regressão com respectivos intervalos de confiança (teste de toxicidade).

| Tipo de LCCV                       | Parâmetro | Estimativa | Intervalo de confiança |                 | Valor-P |
|------------------------------------|-----------|------------|------------------------|-----------------|---------|
|                                    |           |            | Limite inferior        | Limite superior |         |
| Esterilizado                       | $\alpha$  | 45,6727    | 31,0331                | 60,312          | 0,0003  |
|                                    | $\beta$   | 0,3886     | 0,1544                 | 0,6229          | 0,0067  |
| <i>In natura</i>                   | $\alpha$  | 48,6288    | 31,7631                | 65,4945         | 0,0004  |
|                                    | $\beta$   | 0,4065     | 0,1366                 | 0,6763          | 0,0103  |
| Esterilizado +<br><i>in natura</i> | $\alpha$  | 47,1508    | 37,8990                | 56,4025         | <0,0001 |
|                                    | $\beta$   | 0,3975     | 0,2495                 | 0,5456          | <0,0001 |

É provável que exista algum composto presente no LCCV que estimule a degradação biológica do efluente, por exemplo glicose ou quinona, já que existe uma relação direta do consumo de oxigênio com a remoção de substrato. Com relação ao uso de compostos estimulantes da degradação biológica, na literatura são abordados casos de receptores de elétrons alternativos no processo anaeróbio. Cervantes et al. (2001a) empregaram quinona e ácido húmico como mediadores redox na degradação anaeróbia de tolueno. Praticamente não houve remoção de tolueno em culturas não suplementadas e esses bioestimulantes testados, quando adicionados às culturas, contribuíram para a oxidação biológica de tolueno. Para a quinona agir como mediador redox, primeiro ela é reduzida biologicamente por meio de enzimas específicas,

porém é necessário um doador externo de elétrons, que pode ser matéria orgânica, por exemplo. Em seguida, a quinona se oxida para reduzir outro composto, neste caso o tolueno. A quinona retorna à estrutura original e pode atuar novamente como mediador redox. Vários trabalhos mostram que a utilização de mediador redox aumenta a taxa de redução de corantes tipo azo (DAMRONGLERD et al., 2005; FIELD, 2002; SANTOS et al., 2005; CERVANTES et al., 2001b) e de tetracloreto de carbono (CERVANTES et al. 2004), sendo a velocidade de redução diretamente proporcional à quantidade adicionada de mediador (quinona ou riboflavina) para valores baixos de concentração. Consequentemente, existe aumento na taxa de oxidação do substrato utilizado como doador externo de elétrons.

Fazendo uma analogia com o processo anaeróbio, existe a possibilidade de compostos naturais do LCCV agirem como mediadores redox. A presença de taninos no LCCV é um forte indicativo da ação de bioestimulantes, uma vez que esses polifenóis podem formar quinonas – que também são recalcitrantes (MEULENBERG et al., 1997) – a partir de reação com  $O_2$  (ROBERTS, 1941). Além disso, a hidroxihidroquinona é um dos produtos intermediários do metabolismo aeróbio (BHAT et al., 1998). Em experimento paralelo do grupo de pesquisa de tratamento biológico do LCCV (FREITAS NETO, 2007), a atividade metanogênica específica, para processo anaeróbio, foi maior na presença de LCCV e diretamente proporcional à concentração do resíduo líquido.

Também é possível que a grande quantidade de açúcares redutores (monossacarídeos incluindo glicose e frutose) encontrada no LCCV, 37 g/L, de acordo com Teixeira (2007), seja uma das causas do estímulo biológico detectado no teste de toxicidade. Como a fonte de carbono utilizada no efluente controle foi a sacarose, que é um dissacarídeo que precisa ser convertido em monossacarídeos antes de ser assimilado biologicamente, é possível que esta etapa intermediária de degradação influencie na taxa de consumo de oxigênio. Para confirmar essa suposição seria necessário efetuar um ensaio de respirometria em que a fonte de carbono do efluente controle seja um monossacarídeo (glicose, por exemplo).

Comparando com outros trabalhos sobre respirometria com efluente contendo taninos, os valores máximos obtidos nesta pesquisa foram bem superiores. Barr et al. (1996), utilizando biomassa de sistema de lodos ativados em escala de laboratório para a situação com COV de 2,9 a 7,9 g DQO/L.d e temperatura de 35 °C, detectaram TCOe máxima de 35 mgO<sub>2</sub>/gSSV.h com efluente do processo de branqueamento do papel Kraft, enquanto no teste com LCCV do presente trabalho obtiveram-se valores de até 92 mgO<sub>2</sub>/gSSV.h. O fato de o LCCV conter glicose em elevada concentração (TEIXEIRA, 2007) e do efluente utilizado por Barr et al. (1996) possuir baixa relação DBO/DQO (em torno de 0,22) pode ser uma causa da diferença observada em relação à TCO específica. Veliloglu et al. (1992), avaliando a tratabilidade de efluente da produção de azeite de oliva, também obtiveram valor menor de TCOe máxima: 29 mgO<sub>2</sub>/gSSV.h. O lodo utilizado no teste de TCO era proveniente de sistema de lodos ativados em escala de bancada, o qual foi operado a 17 °C e 25 °C e com COV de 0,6 a 3,4 g DBO/L.d.

Por outro lado, Ganesh et al. (2006) conseguiram atingir valor máximo de 226 mgO<sub>2</sub>/gSSV.h, que é bem superior ao do presente trabalho. A fonte de biomassa utilizada para a respirometria era um licor misto de um sistema de batelada sequencial, operado com escala de bancada com COV de 1,0 e 2,0 kg DQO/m<sup>3</sup>.d. Como o efluente utilizado na respirometria passava por um pré-tratamento com coagulação, boa parte da matéria inerte ou recalcitrante era removida, fazendo com que 66% a 70% da DQO afluente fosse prontamente biodegradável, o que pode ter contribuído para a obtenção de TCOe tão elevada.

### **Verificação de inibição permanente**

Os dados obtidos com o teste de inibição permanente estão apresentados na Figura 18. É notável uma pequena influência da concentração de LCCV esterilizado no aumento da TCOe máxima e um comportamento praticamente constante no caso do efluente in natura. Em geral, não houve “sequelas” ao lodo devido à adição de LCCV ao fermentador.

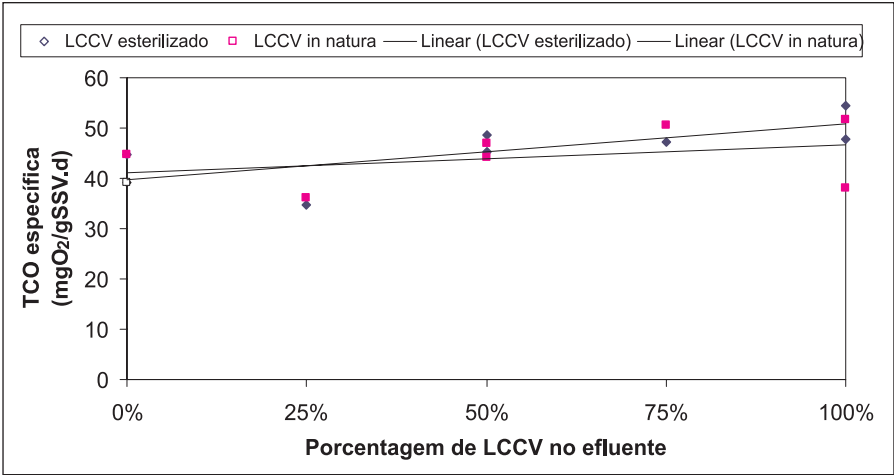


Figura 18. Valores máximos de TCOe para o ensaio de inibição permanente

Os resultados obtidos com a análise estatística dos dados de inibição permanente estão resumidos na Tabela 17. Os pontos relacionados ao LCCV esterilizado se ajustaram de modo significativo à análise de regressão. No caso do efluente in natura, não ocorreu o ajuste devido ao valor-P elevado do coeficiente angular, indicando que a concentração de LCCV não prejudica e nem beneficia a degradação biológica de uma nova aplicação de efluente controle. Uma das possíveis causas da falta de ajustamento do modelo para o LCCV in natura é o erro de medição durante o procedimento.

Tabela 17. Estimativa dos coeficientes linear e angular pela análise de regressão com respectivos intervalos de confiança (teste de inibição permanente).

| Tipo de LCCV             | Parâmetro | Estimativa | Intervalo de confiança |                 | Valor-P |
|--------------------------|-----------|------------|------------------------|-----------------|---------|
|                          |           |            | Limite inferior        | Limite superior |         |
| Esterilizado             | $\alpha$  | 39,7688    | 33,2214                | 46,3161         | <0,0001 |
|                          | $\beta$   | 0,1094     | 0,0047                 | 0,2142          | 0,0432  |
| In natura                | $\alpha$  | 40,9993    | 32,8024                | 49,1963         | <0,0001 |
|                          | $\beta$   | 0,0582     | -0,0730                | 0,1893          | 0,3196  |
| Esterilizado + in natura | $\alpha$  | 40,3841    | 35,9832                | 44,7849         | <0,0001 |
|                          | $\beta$   | 0,0838     | 0,0134                 | 0,1542          | 0,0230  |



Os modelos ajustados para cada tipo de LCCV testado foram semelhantes, por isso foi realizada análise de regressão global. O modelo do teste de inibição permanente independente da concentração de LCCV se ajustou de modo significativo à análise estatística. O baixo valor estimado para o coeficiente angular ( $a = 0,0838$ ) indica uma influência sutil do LCCV na elevação da TCOe máxima com nova adição de efluente controle, possivelmente por causa do efeito estimulante residual da adição de LCCV ao fermentador.

### **Operação do sistema de lodos ativados**

Os resultados obtidos para DQO (bruta e solúvel), taninos totais e pH estão apresentados na Figura 19.

O comportamento dos gráficos de DQO bruta e filtrada é semelhante, já que, em boa parte dos pontos coletados, os valores são bem próximos. A variação abrupta dos valores do efluente de entrada, a partir do 90º dia, deve-se à diluição do LCCV puro com o intuito de garantir a alimentação contínua do reator, pois, em alguns dias do experimento, não foi possível coletar LCCV em quantidade suficiente. Por volta do 80º dia, a DQO de saída aumentou, até atingir um novo patamar, em torno de 10 g/L, no 90º dia. Para o cálculo da eficiência de remoção do sistema, foram contabilizados os valores de DQO do efluente de saída a partir desse novo patamar. Outro fator para a escolha da data inicial para o cálculo de remoção foi o elevado tempo de detenção hidráulica.

A remoção média do sistema de lodos ativados foi de 81% para DQO solúvel e 82% para DQO bruta. De acordo com dados obtidos recentemente na Embrapa Agroindústria Tropical por Teixeira (2007), a concentração de açúcares no LCCV é elevada, variando de 37 g/L (redutores) a 43 g/L (redutores totais), fator este que contribuiu para a obtenção dessas reduções de DQO.

O desempenho alcançado no presente experimento está bem acima do obtido em outros trabalhos. Diez et al. (2002), analisando o tratamento de efluente do processo de branqueamento do papel Kraft através de um sistema de lodos ativados convencional em escala de

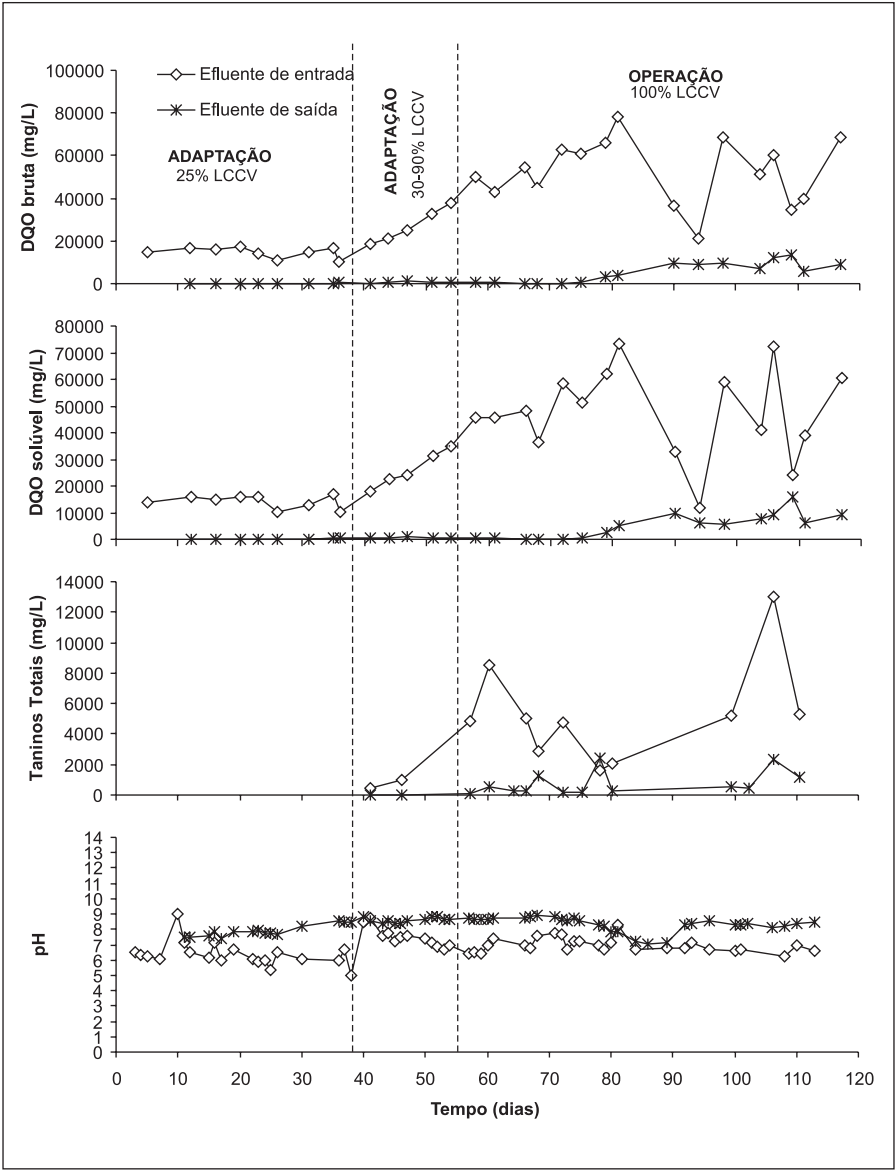


Figura 19. Monitoramento da DQO bruta, DQO solúvel, taninos totais e pH no sistema de lodos ativados.

bancada, chegaram a obter 58% de remoção de DQO para valores de COV variando de 0,7 a 6,0 kg/m<sup>3</sup>.d para DQO. Deve-se observar que a relação DBO/DQO do efluente do beneficiamento de papel (dependendo do processo) é menor que a do LCCV (que é em torno de 0,5); neste caso, Diez et al. (2002) obtiveram valores inferiores a 0,3. Barr et al. (1996) também empregaram lodos ativados para efluente do processo Kraft e obtiveram remoção média de DQO até 41% (COV igual a 2,8 g DQO/L.d e temperatura de 35 °C). Lazaretti et al (2000), utilizando microrganismos selecionados através do bioaumento e com boas condições de biodegradabilidade (relação DBO/DQO igual a 0,6), conseguiram remoção média de DQO de 40% a 50% para um sistema de lodos ativados em escala plena tratando água residuária de indústria de papel e celulose (COV de 1,0 a 1,4 kg DQO/m<sup>3</sup>.d). Benitez et al. (2003a) avaliaram o emprego de lodos ativados em escala laboratorial para tratar água residuária do processo de fabricação de rolha a partir de cortiça, obtendo remoção de DQO entre 13% e 37% para COV entre 0,4 e 1,7 g DQO/L.d. Pelillo et al. (2006) estudaram tratamento com reator de batelada sequencial (escala de bancada e temperatura de 25 °C) aplicado a efluente de fábrica de azeite de oliva, obtendo valores de remoção de DQO de 64% (COV igual a 2,2 g DQO/L.d).

Alguns trabalhos apresentaram desempenho de reator semelhante ao do presente experimento com LCCV. Brenes et al. (2000) obtiveram redução de DQO praticamente igual (79%) em pesquisa com resíduo líquido do beneficiamento de azeitona verde sendo tratado com lodos ativados em escala laboratorial (temperatura no reator de 25 °C), porém a carga orgânica volumétrica aplicada foi bem maior (6,8 g DQO/L.d). Para experimento em escala laboratorial com efluente de curtume (pré-tratado por processo físico-químico) empregando sistema convencional de lodos ativados, Ryu et al. (2007) atingiram remoção máxima de DQO igual a 75%, para temperatura igual a 20 °C, COV aproximadamente igual a 3,0g DQO/L.d. Ahn et al. (1996) empregaram lodos ativados em escala de bancada para tratar efluente de curtume, operando com valores de COV entre 1,8 e 2,4 g DQO/L.d, temperatura de 20 ± 2 °C, obtendo remoção de DQO de 87%. Suvilampi e Rintala (2004) conseguiram bom desempenho no tratamento de efluente de

fabricação de papel e celulose com lodos ativados em escala piloto, atingindo remoção de DQO filtrada de até 85% (COV igual a 2,2 kg DQO filtrada/m<sup>3</sup>.d). Avaliando um sistema de lodos ativados (escala de laboratório) no tratamento de despejo líquido de beneficiamento de vinho, Benitez et al. (2003b) obtiveram redução de DQO de 79% a 85% para COV de 6,5 kg DQO/m<sup>3</sup>.d. Ganesh et al. (2006) conseguiram remoção de DQO praticamente igual ao do presente experimento (81%) no tratamento de efluente de curtume com lodos ativados de batelada sequencial em escala de bancada (COV de 1,9 – 2,1 kg DQO/m<sup>3</sup>.d).

Percebe-se que a remoção de matéria orgânica obtida neste trabalho foi semelhante ou superior à maioria dos experimentos que utilizaram sistema de lodos ativados com algumas condições operacionais similares para tratar despejo líquido contendo taninos.

Apesar da redução alta de DQO obtida durante a fase de operação, o efluente de saída do sistema ainda possui DQO elevada (valor médio de 8.816 mg/L para amostra filtrada e 9.508 mg/L para amostra bruta). Uma opção que pode ser testada com o intuito de reduzir mais esses valores é o uso de culturas selecionadas capazes de remover compostos como lipídios ou polifenóis, que podem ser empregadas como única fonte de biomassa ou como incremento da população microbiana já existente (bioaumento) no sistema de tratamento (AHN et al., 1996; FRANTA; WILDERER, 1997; ISIDORI et al., 2004; LAZZARETTI et al., 2000).

Os valores referentes a taninos totais no efluente de entrada foram bem variados, possivelmente devido à sensibilidade do procedimento analítico. Durante a fase de operação, a concentração média de entrada foi de 5.332 mg/L, enquanto que a de saída foi igual a 1.206 mg/L. Apesar da diminuição na concentração, não ocorreu necessariamente degradação biológica dos taninos. O que pode ter ocorrido foi adsorção desses polifenóis ao lodo, mas para confirmar esta suspeita seria necessário analisar a composição química da biomassa. Existe ainda a possibilidade de remoção conjunta de taninos por degradação biológica e adsorção. De qualquer maneira, pelos resultados obtidos, deve-se

considerar a remoção de taninos no dimensionamento em escala plena.

Frequentemente, o resíduo de pó mais fino da trituração da casca de coco-verde ficava no LCCV decantado, mesmo utilizando-se peneira e deixando o LCCV bruto em repouso para sedimentação de sólidos, o que explica as concentrações elevadas de SS no efluente de entrada em alguns pontos. Uma alternativa para minimizar a presença dos sólidos provenientes da reciclagem da casca de coco-verde é a instalação de uma unidade de decantação primária. Inicialmente, os valores do efluente de SS na saída do sistema eram baixos, menores que 200 mg/L. A partir do 80º dia, a concentração de sólidos suspensos na saída do sistema aumentou, chegando a atingir 13.670 mg/L no 107º dia. A causa destes valores mais elevados, a partir da metade do período de operação, foi o aumento significativo da quantidade de lodo no reator, que teve como consequência o carregamento de lodo junto com o efluente de saída.

De acordo com a readequação do sistema para operar com LCCV puro, a concentração de SSV no tanque de aeração deveria atingir o valor aproximado de 20 g/L quando fosse alimentado com LCCV puro. Para tentar alcançar este valor, a partir do 12º dia, o descarte de lodo foi paralisado. A concentração de biomassa aumentou, mas não o suficiente para chegar a 20 gSSV/L. Além disso, a demanda de oxigênio também cresceu a partir do 48º dia, o que provocou um decaimento de OD no reator para menos de 1,0 mg/L. Mesmo fornecendo uma vazão de ar elevadíssima e descartando diariamente o lodo do reator, não foi possível atingir novamente o patamar desejado de 2,0 mg/L até o final da operação.

Na Figura 20, são mostrados os resultados obtidos de SS, SSV, OD e IVL.

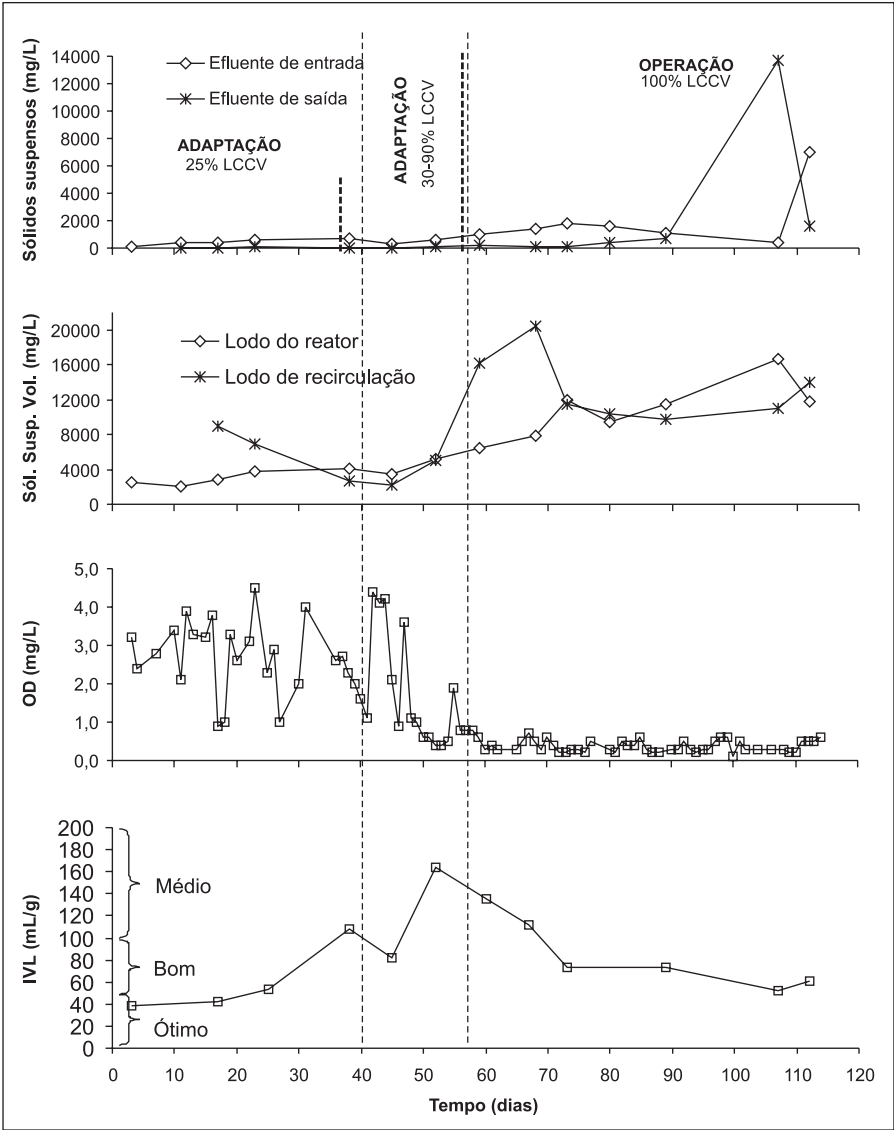


Figura 20. Monitoramento de sólidos suspensos (totais e voláteis), OD e IVL no sistema de lodos ativados.

Um fator que dificultou a retomada do aumento da concentração de OD no reator foi a carga orgânica elevada do efluente, já que a formação de biomassa é diretamente proporcional à DQO (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999). Os valores baixos de OD durante a operação não afetaram a remoção de DQO e nem a sedimentabilidade do lodo, que variou de média a boa durante a operação do reator, com valor médio de 84 mL/g. Ahn et al. (1996) obtiveram valor médio próximo (90 mL/g) com o tratamento de efluente de curtume otimizado por bioaumento.

Com relação aos dados de pH, a maior parte dos pontos relacionados ao efluente de entrada ficou na faixa desejada: entre 6,5 e 7,5. Os valores de saída foram mais altos que os de entrada durante quase toda a operação. Os valores médios de pH de entrada e saída do sistema foram, respectivamente, 6,8 e 8,0.

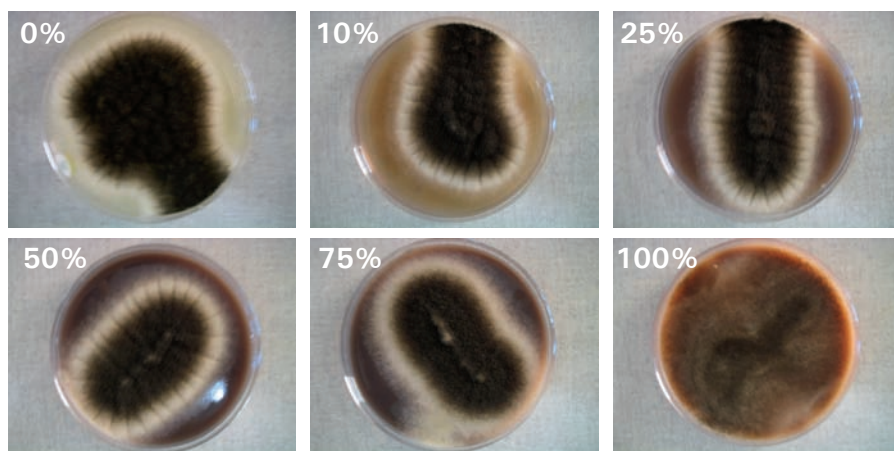
A principal desvantagem encontrada no tratamento do LCCV com lodos ativados foi o elevado consumo de OD devido ao crescimento exagerado de biomassa no reator. Mesmo fornecendo vazão de ar elevadíssima, a concentração de OD ultrapassou 1,0 mg/L apenas em um ponto coletado. O tratamento em escala plena pode se tornar inviável para esse efluente de elevada carga orgânica por causa do elevado consumo de energia proveniente do fornecimento de ar. Uma solução para reduzir o fornecimento necessário de ar e, conseqüentemente, diminuir os custos de operação, seria o pré-tratamento anaeróbio, que reduziria a carga orgânica do LCCV com gastos menores de energia, além de diminuir a demanda de oxigênio no reator aeróbio. Em experimento paralelo do grupo de pesquisa de tratamento biológico do LCCV, Freitas Neto (2007) obteve remoção de DQO semelhante ao do presente trabalho (85%) operando reator UASB em escala laboratorial, porém com a vantagem de utilizar carga orgânica volumétrica bem mais elevada (10 kg DQO/m<sup>3</sup>.d contra 2,3 kg DQO/m<sup>3</sup>.d deste experimento) e não necessitar de aeração. Outra saída seria o uso do sistema modificado jet-loop (EUSÉBIO et al., 2007; PETRUCCIOLI et al., 2002). A aeração desse tipo de sistema ocorre por meio de injetor Venturi e dispensa o uso de máquinas para aeração, que foi a principal dificuldade para operar o sistema empregado nesta pesquisa.

## Reator Biológico com Fungos

### Teste de toxicidade do LCCV em placas

Após o primeiro dia de incubação, foi perceptível o crescimento de *Aspergillus niger* em todas as placas. No segundo dia de incubação, percebeu-se crescimento dos esporos *Aspergillus niger* em todas as placas, sendo mais acentuada na amostra com 25% de LCCV. No 3º dia de incubação, as placas com 10%, 25%, 50% e 75% (Figura 21) apresentavam crescimento visual similar de esporos de *Aspergillus niger*.

Completados quatro dias de incubação, todas as placas, com exceção da de 100% LCCV, apresentavam esporos de *Aspergillus niger* em toda a superfície. Somente após cinco dias, a placa com 100% de LCCV apresentou superfície totalmente recoberta por esporos.



**Figura 21.** Imagem das placas com 0%, 10%, 25%, 50%, 75% e 100% de LCCV, aos três dias de incubação.

Taninos podem ter efeitos inibitórios sobre bactérias e fungos, contudo, neste trabalho os resultados do teste de toxicidade em placas demonstraram que a espécie *Aspergillus niger* foi capaz de crescer e se desenvolver na presença de efluente (LCCV) contendo taninos, confirmando o exposto por Bhat et al. (1998), que afirmam que apesar



das propriedades antimicrobianas dos taninos, muitos fungos, bactérias e leveduras são resistentes, conseguem crescer e se desenvolver em ambientes caracterizados pela presença de taninos.

Cada microrganismo responde ao ambiente, gerando vantagem seletiva e competitiva em seu nicho ecológico. A resposta do microrganismo ao ambiente eventualmente é interativa, pois enquanto cresce e se reproduz (adaptação ao ambiente), ele modifica o meio como consequência de suas próprias atividades de crescimento e, em alguns casos, para melhorar suas vantagens competitivas perante outros microrganismos.

A versatilidade e capacidade de crescimento do *A. niger* em ambientes com compostos tóxicos e recalcitrantes foi demonstrada na pesquisa desenvolvida por Sampaio (2005). Foram realizados testes em placas para avaliar crescimento de *A. niger* em meio contendo diferentes concentrações de metil-paration. A autora afirmou que, apesar de o meio imposto ao microrganismo oferecer condições nutricionais adequadas com fonte de carbono, proteínas, elementos-traço, e temperatura ideal ao seu crescimento, a presença de metil-paration em concentrações elevadas não impediu a reprodução da espécie.

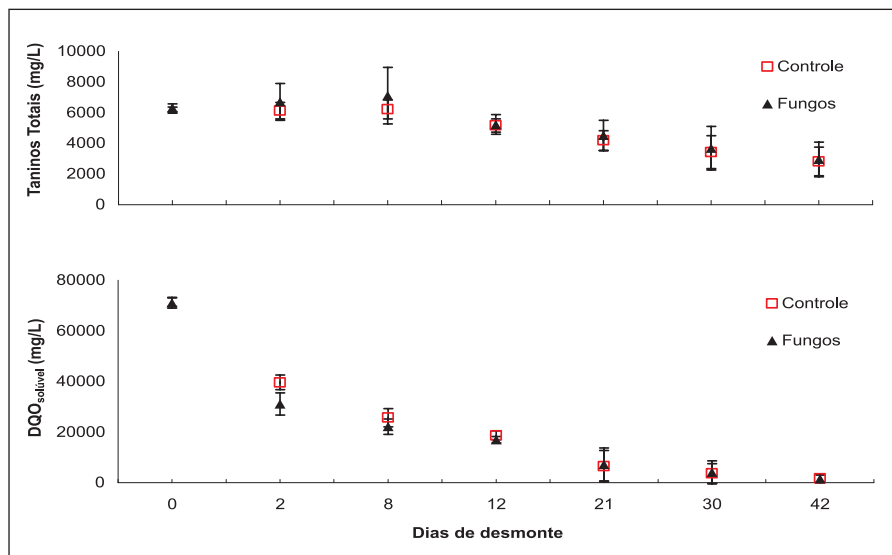
### **Ensaio de Biodegradabilidade Aeróbia Fúngica do LCCV**

Na Figura 22, são visualizadas as variações das concentrações de taninos totais e DQO solúvel determinados para os reatores controle e com fungos durante os ensaios de biodegradabilidade aeróbia.

O LCCV demonstrou elevada biodegradabilidade visto que, após trinta dias de ensaio e considerando todos os reatores utilizados, em média 95% da DQO solúvel inicial havia sido consumida.

Análises de variância comprovaram que não ocorreram diferenças significativas (nível de significância de 95%) entre os resultados obtidos nos reatores controle e com fungos tanto para DQO quanto para taninos totais. Portanto, a espécie fúngica *Aspergillus niger* AN 400 não aumentou os valores da eficiência de remoção de DQO solúvel e taninos totais do LCCV, quando comparada aos resultados obtidos

nos reatores controle, ou seja, microrganismos naturais do LCCV são capazes de degradar aerobiamente este efluente e, portanto, a partida do RBF poderia ser feita sem a inoculação de *Aspergillus niger*.



**Figura 22.** Variação da concentração de taninos totais e DQO solúvel ao longo dos ensaios de biodegradabilidade aeróbia. As barras de erros indicam os valores máximos e mínimos.

## Análises Microbiológicas

Embora o reator tenha sido inoculado com  $2,0 \times 10^6$  esporos/mL, de *Aspergillus niger*, observou-se o desenvolvimento de uma massa gelatinosa de coloração amarela no interior do reator. As análises microbiológicas, feitas a 120 e 170 (Etapa A – Fase2) dias de operação, indicaram a inexistência de fungos filamentosos no reator e a presença de leveduras que não puderam ser identificadas.

Os resultados das análises microbiológicas demonstraram que as leveduras nativas do LCCV se adaptaram ao ambiente do RBF. Portanto, o reator continuou a ser operado, mesmo na ausência de *Aspergillus niger*, uma vez que leveduras são fungos unicelulares cuja

maioria pertence ao filo ascomicetos. As leveduras podem sobreviver em ambientes aeróbios, anaeróbios ou facultativos, portanto, têm capacidade de se ajustar metabolicamente tanto em condições de aerobiose, como de anaerobiose (GRIFFIN, 1994).

### **Operação do RBF**

Ao longo da operação do RBF, o pH afluente e efluente apresentou valor médio de 4,8 ( $\pm 0,4$ ) e 3,9 ( $\pm 0,3$ ), respectivamente.

Segundo Griffin (1994), fungos modificam o pH do meio durante o crescimento. Teixeira (2007), como parte da pesquisa, avaliou a fermentação natural do LCCV e notou que o crescimento de leveduras nativas do LCCV diminuía o pH do meio.

### **Oxigênio Dissolvido e Sólidos Voláteis**

As concentrações de oxigênio dissolvido (OD), determinadas no RBF durante a operação, apresentaram valores médios de 2,0 ( $\pm 0,9$ ), 1,2 ( $\pm 0,4$ ) e 1,9 ( $\pm 0,9$ ) mgOD/L para as Fases 1, Etapa A (Fase 2) e Etapa B (Fase 2), respectivamente. Apesar desses valores, não se pode afirmar que as concentrações de OD não foram restritivas às atividades biológicas no RBF pois, em sistemas aeróbios com biomassa imobilizada mesmo que sejam mantidas concentrações superiores a 0,5 mgOD/L, não pode ser descartada a hipótese de que a concentração de OD não é limitante à atividade biológica. Para determinação da concentração limitante, devem ser realizados ensaios dos mecanismos de transferência de massa e da velocidade de consumo de oxigênio dissolvido pelos microrganismos presentes no reator (VIEIRA et al., 2001).

Contudo, apesar da utilização de um soprador de ar (a partir do 180º dia de operação), que apresentava capacidade de injeção de ar muito superior aos minicompressores de ar utilizados anteriormente, no início da Etapa B (Fase 2), verificou-se que as concentrações de OD começaram a declinar, devido ao acúmulo de biomassa.

Na Figura 23, são apresentadas as variações de oxigênio dissolvido (OD) no RBF e decantador, as concentrações de sólidos voláteis

(SV) no afluente e efluente do sistema RBF-decantador e as eficiências de remoção de SV verificadas durante a operação do RBF. Para efeito didático, nas Figuras 23, 24 e 25 será também apresentado o gráfico com a variação da COV, que possibilitará a avaliação do comportamento desse reator durante as diversas fases e etapas operacionais.

Assim, visando ao aumento da concentração de OD no RBF, a partir do 212º dia de operação, foram iniciados e mantidos, até o final da pesquisa, descartes semanais de aproximadamente 5,5 kg da biomassa localizada na parte superior do RBF.

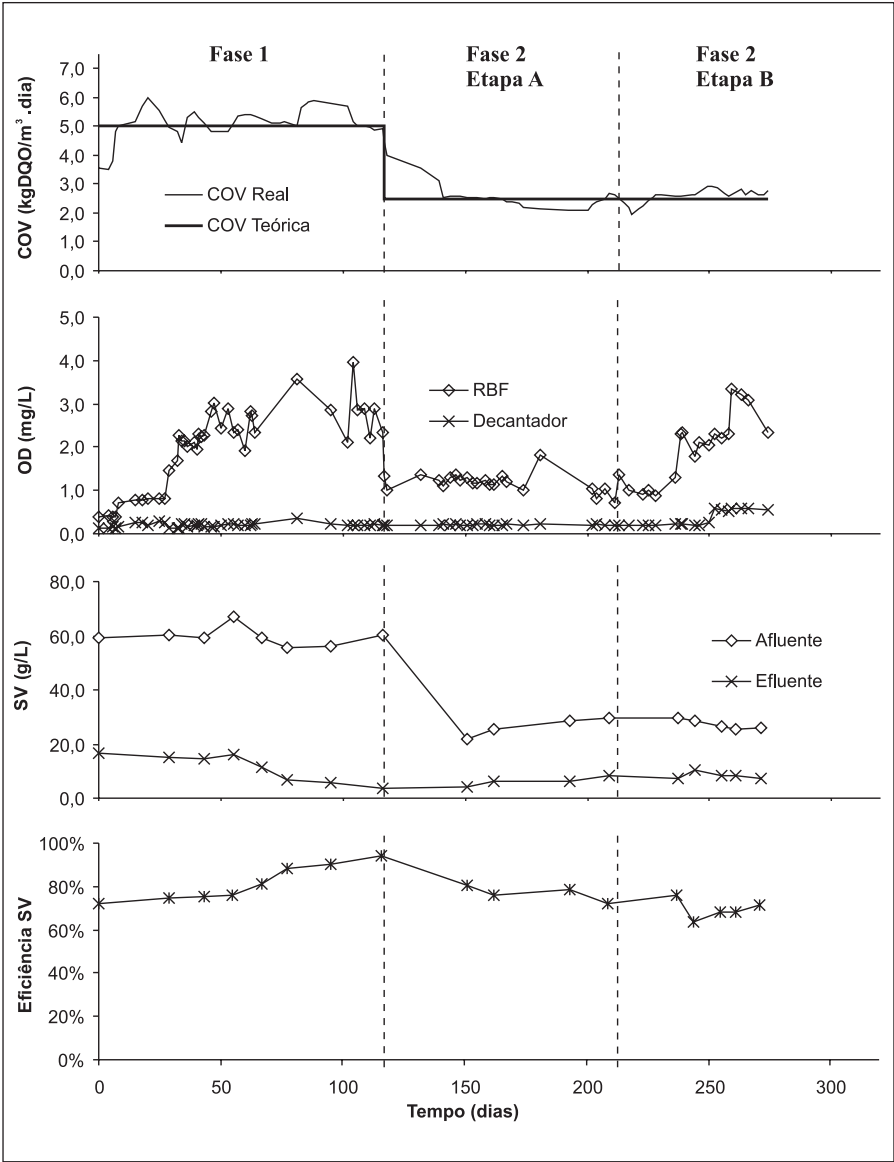
DQO

Nas Tabelas 18 e 19, são apresentadas as concentrações médias, máximas e mínimas, número de amostras determinadas (ND), desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV) e intervalo de confiança (IC), com nível de significância de 95 % ( $\alpha=0,05$ ), de DQO verificadas no afluente e efluente do RBF ao longo da Fase 1 e durante as Etapas A e B (Fase 2).

O afluente ao RBF apresentou grande variação da concentração de DQO, principalmente durante a Fase 1 de operação do RBF. Esta variação era esperada, pois o LCCV é um efluente gerado por matéria prima natural oriunda de diversos locais. Porém, ainda são necessários estudos específicos para melhor compreensão da correlação entre as características físicas e químicas das cascas de coco e o LCCV.

**Tabela 18.** Número de determinações, concentrações médias, máximas, mínimas, desvio padrão, coeficiente de variação e intervalo de confiança de DQO determinadas no afluente e efluente do RBF durante a Fase 1.

| Descrição               | Unidade | Afluente | Efluente |
|-------------------------|---------|----------|----------|
| ND                      | und     | 41       | 41       |
| Concentração média      | mg/L    | 62.382   | 25.748   |
| Concentração máxima     | mg/L    | 95.286   | 40.433   |
| Concentração mínima     | mg/L    | 36.946   | 12.400   |
| Desvio padrão           | mg/L    | 11.128   | 6.086    |
| Coeficiente de variação | %       | 17,8     | 23,6     |
| Intervalo de confiança  | mg/L    | ± 3.406  | ± 1.863  |



**Figura 23.** Variações das concentrações de oxigênio dissolvido (OD) no RBF e decantador, concentrações de sólidos voláteis (SV) no afluente e efluente do sistema RBF-decantador e eficiências de remoção de SV observadas durante a operação do RBF.

**Tabela 19.** Número de determinações, concentrações médias, máximas, mínimas, desvio padrão, coeficiente de variação e intervalo de confiança de DQO determinadas no afluente e efluente do RBF durante a Fase 2, Etapas A e B.

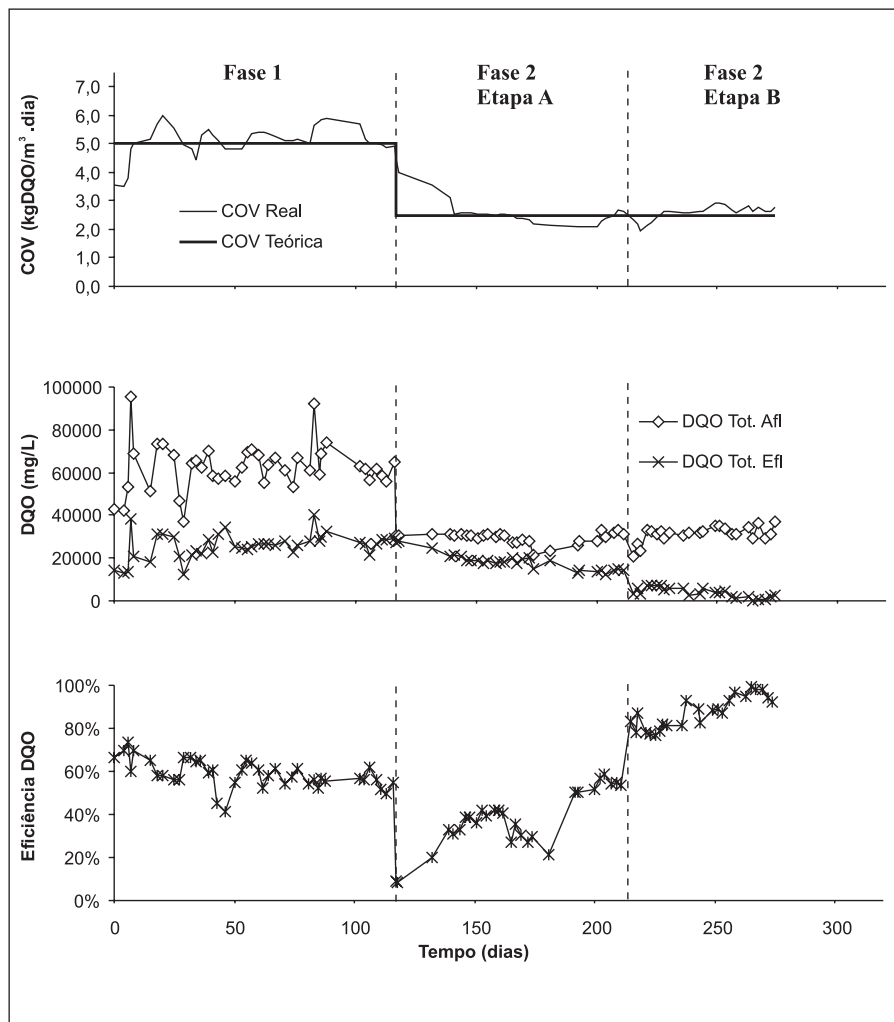
| Descrição               | Unidade | Etapa A  |          | Etapa B  |          |
|-------------------------|---------|----------|----------|----------|----------|
|                         |         | Afluente | Efluente | Afluente | Efluente |
| ND                      | und.    | 28       | 28       | 24       | 24       |
| Concentração média      | mg/L    | 29.442   | 18.277   | 32.446   | 3.036    |
| Concentração máxima     | mg/L    | 33.234   | 28.133   | 36.840   | 7.389    |
| Concentração mínima     | mg/L    | 21.450   | 12.433   | 20.676   | 1.840    |
| Desvio padrão           | mg/L    | 2.644    | 3.981    | 3.724    | 2.285    |
| Coeficiente de variação | %       | 9,0      | 21,8     | 11,5     | 12,3     |
| Intervalo de confiança  | mg/L    | ± 979    | ± 1.475  | ± 1.490  | ± 914    |

Na Tabela 20 são discriminados valores médios, máximos, mínimos, número de amostras determinadas (ND), DP, CV e IC ( $\alpha=0,05$ ), das eficiências de remoção de DQO observadas para o RBF durante as Fases 1 e 2 (Etapas A e B) da operação.

**Tabela 20.** Número de determinações, valores médios, máximos, mínimos, desvio padrão, coeficiente de variação e intervalo de confiança, das eficiências de remoção de DQO obtidas pelo RBF durante as Fases 1 e 2 (Etapas A e B) da operação.

| Descrição               | Eficiência de remoção de DQO (Fase 1) | Eficiência de remoção de DQO (Fase 2) |         |
|-------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------|
|                         |                                       | Etapa A                               | Etapa B |
| ND                      | 41                                    | 28                                    | 24      |
| Média                   | 58,8%                                 | 37,6%                                 | 90,6%   |
| Máxima                  | 73,8%                                 | 58,6%                                 | 99,2%   |
| Mínima                  | 41,1%                                 | 8,7%                                  | 76,5%   |
| Desvio padrão           | 6,6%                                  | 13,4%                                 | 7,4%    |
| Coeficiente de variação | 11,2%                                 | 35,7%                                 | 8,2%    |
| Intervalo de confiança  | ± 2,0%                                | ± 5,0%                                | ± 3,0%  |

As eficiências de remoção de DQO verificadas no RBF durante a Fase 1 apresentaram valores estáveis, com baixa variação. Porém, durante a Etapa A da Fase 2, ocorreu grande variação das eficiências de remoção de DQO, com valores inferiores aos verificados durante a Fase 1 (Figura 24).



**Figura 24.** Variações das concentrações de DQO no afluente e efluente do sistema RBF-decantador e eficiências de remoção de DQO observadas durante a operação do RBF.

Com diminuição da COV aplicada ao RBF, passando de 5,0 (Fase 1) para 2,5 kgDQO/m<sup>3</sup>.d (Fase 2), eram esperadas eficiências de remoção de DQO superiores, durante a Fase 2, em comparação com a Fase 1, visto que, em reatores de biomassa imobilizada, a estabilidade e eficiência de remoção de DQO aumentam quando COV menores são aplicadas, uma vez que a resistência durante a transferência de massa é reduzida. Provavelmente isto se deu devido à concentração elevada de lodo, o ocasionou problemas de difusão de oxigênio.

Para melhorar o problema relacionado com transferência de oxigênio, na Etapa B, foi feito controle do crescimento de microrganismos mediante o descarte de biomassa. Assim, mecanismos de transferência de massa podem ter ocorrido com mais eficiência durante esta etapa, que resultou no equilíbrio da atividade dos microrganismos no reator.

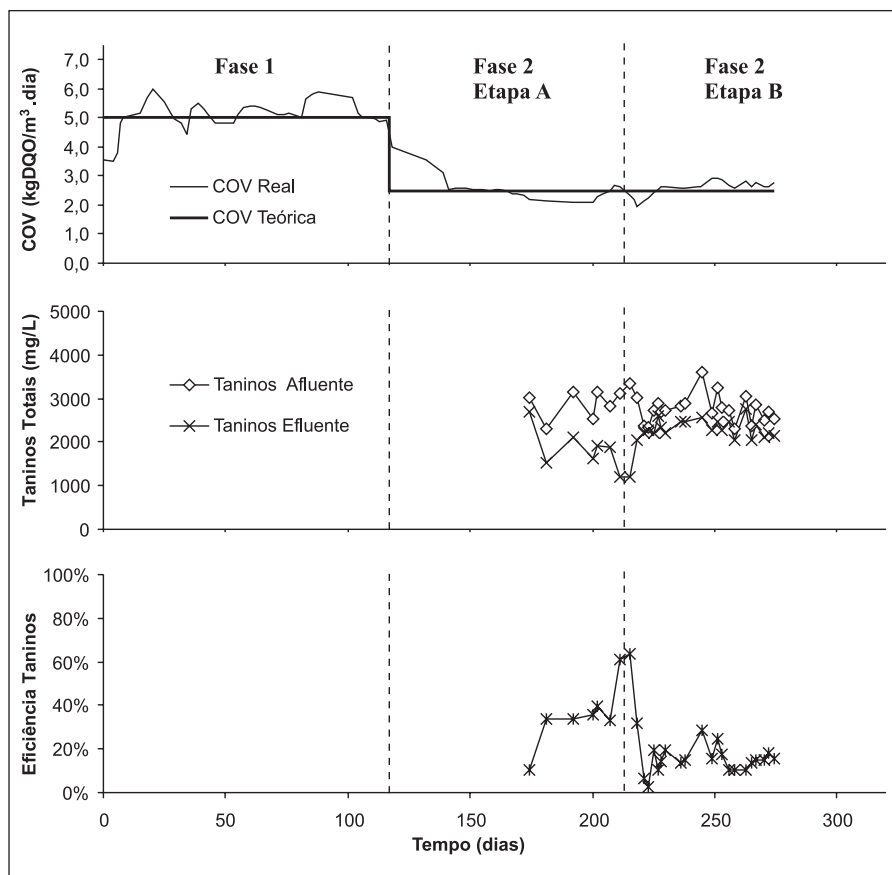
**Taninos totais**

Na Tabela 21, são apresentados valores médios, máximos, mínimos, número de amostras, DP, CV e IC ( $\alpha=0,05$ ), das eficiências de remoção de taninos totais observadas para o RBF durante a Fase 2 (Etapas A e B) de operação. Na Figura 25, variações das concentrações de taninos totais do sistema RBF-decantador e eficiências de remoção de taninos totais observadas durante a operação do RBF.

**Tabela 21.** Número de determinações, valores médios, máximos, mínimos, desvio padrão, coeficiente de variação e intervalos de confiança, das eficiências de remoção de taninos totais obtidas pelo RBF durante a Fase 2 (Etapas A e B) da operação.

| Descrição               | Eficiência de remoção de taninos totais (Fase 2) |         |
|-------------------------|--|---------|
|                         | Etapa A  | Etapa B |
| ND                      | 7  | 22      |
| Média                   | 35,4%  | 14,8%   |
| Máxima                  | 61,2%  | 28,8%   |
| Mínima                  | 10,6%  | 2,8%    |
| Desvio padrão           | 14,8%  | 5,8%    |
| Coeficiente de variação | 41,7%  | 39,3%   |
| Intervalo de confiança  | ± 11,0%  | ± 2,4%  |





**Figura 25.** Variações das concentrações de taninos totais no afluente e efluente do sistema RBF-decantador e eficiências de remoção de taninos totais observadas durante a operação do RBF.

É mais provável que os taninos não tenham sido completamente utilizados como fonte de carbono pelas leveduras presentes no RBF. As baixas remoções de taninos podem ter sido fruto das próprias características do LCCV uma vez que as leveduras necessitariam gastar energia para metabolizar os taninos, que são compostos de maior massa molecular, em relação aos açúcares que estão presentes naturalmente, e em concentrações elevadas. O resultado da análise de

açúcares, realizada no final da pesquisa, revelou que o RBF removeu 81% dos açúcares totais, e 93% dos açúcares redutores. Portanto, ficou comprovado que as leveduras presentes no RBF estavam adaptadas ao consumo dos açúcares constituintes do LCCV, não necessitando assim de outra fonte de carbono como os taninos.

Além disso, as baixas remoções de taninos observadas no RBF durante a Etapa B (Fase 2) confirmaram os resultados obtidos nos ensaios de biodegradabilidade do LCCV, que também apresentaram baixas remoções de taninos nos reatores controles.

Portanto, leveduras normalmente optam por fontes de carbono mais abundantes e de menores massas moleculares. A biodegradação de compostos maiores como taninos e ligninas exige, inicialmente, que eles sejam rompidos em unidades monoméricas menores, antes que sejam absorvidos. Esta ruptura de macromoléculas é um processo que ocorre com dispêndio de energia, pois é realizada no exterior da célula fúngica mediante a secreção de enzimas catabolizadoras das reações de hidrólise (GRIFFIN, 1994). Possivelmente, caso ocorressem limitações nas concentrações de açúcares no LCCV, os taninos seriam removidos por cometabolismo.

Como ocorreram baixas remoções de taninos utilizando o RBF, as frações remanescentes de taninos no efluente podem ser exploradas comercialmente visto que, segundo Brígida e Rosa (2003) a demanda por taninos é um mercado que está em plena expansão, portanto, a busca por fontes desta substância deve ser explorada.

## **Considerações Finais sobre o Tratamento do LCCV**

Reatores UASB são reconhecidos por poderem ser operados com elevada carga orgânica, o que propicia a redução de suas dimensões (no caso do tratamento do LCCV, este reator seria quatro vezes menor que o RBF ou SLA). Além disso, não utiliza fonte de energia externa para aeração ou agitação. No entanto, ele não consegue atingir eficiência elevada de remoção de matéria orgânica. Há ainda

o problema de estabilidade do pH quando ele é operado com COV elevada, necessitando de adição de alcalinizante (ureia, cal ou bicarbonato de sódio) ou algum sistema de remoção da acidez (por exemplo: recirculação do efluente previamente aerado).

O Sistema de Lodos Ativados não se adequou ao tratamento do LCCV bruto. Embora se tenha conseguido remoções de até 80%, o consumo de oxigênio foi muito elevado, o que geraria um gasto energético muito alto em um sistema em escala real. Além disso, houve uma grande produção de lodo, o que implicaria em mais despesas com tratamento e disposição final.

A configuração do Reator Biológico com Fungos com biomassa imobilizada não pareceu apropriada. Ocorreu elevado crescimento de biomassa o que dificultou a operação desse reator, devido à colmatção do meio e dificuldade de remoção do lodo. Estas dificuldades tornariam a operação de um reator em escala real muito complicada. Provavelmente uma adaptação de um sistema de biodiscos inoculados com fungos seja a mais adequada. A baixa remoção de taninos nesse tipo de reator pode viabilizá-lo para pré-tratamento do efluente visando à recuperação desse composto.

Caso seja realmente necessário tratar o LCCV para adequá-lo a um corpo hídrico Classe 2 (CONAMA, 2005), com DBO abaixo de 5 mg/L deve-se utilizar um sistema composto por UASB seguido de Biodiscos com fungos ou um sistema de lodos ativados – é possível que haja necessidade de um tratamento terciário para reduzir teores de nitrogênio, cor, etc. Desta forma a maior parte da matéria orgânica será removida em um sistema de altíssima taxa, reduzindo o consumo de oxigênio no pós-tratamento aerado. No entanto deve-se notar que uma estação de tratamento de esgotos industriais para efluentes com elevada concentração tem custos de investimento, operação e manutenção elevados, inviabilizando uma pequena empresa como uma usina de beneficiamento da casca do coco-verde. A alternativa mais adequada nesse caso é realizar apenas um pré-tratamento através de um sistema anaeróbio (UASB ou lagoa) e lançar este efluente pré-

tratado em um sistema existente com capacidade para suportar a carga orgânica diária. Por exemplo: pode-se utilizar a estação de tratamento de esgotos de um distrito industrial ou de um aterro sanitário.

Özacar e Sengil (2000) testaram tanino como auxiliar de coagulação para remover sólidos suspensos de água bruta e também para deságue de lodo. Os melhores resultados para coagulação foram obtidos com o tanino como auxiliar, em comparação com sulfato de alumínio mais polieletrólito aniônico sintético e sulfato de alumínio sem auxiliar. O uso de tanino também acarretou melhor eficiência de deságue de lodo. A pesquisa de Özacar e Sengil (2000) é um exemplo sobre a possibilidade de utilização do LCCV pré-tratado por um reator inoculado com fungos.

## Conclusões

- O LCCV não é tóxico para o consórcio metanogênico.
- O LCCV não é tóxico para *Aspergillus niger*.
- Não ocorreu toxicidade e nem inibição permanente do LCCV no ensaio de respirometria com bactérias aeróbias.
- As leveduras nativas do LCCV dominaram o reator com fungos, inibindo o crescimento do fungo *Aspergillus niger*, indicando que não é necessário inocular o RBF.
- O reator UASB, operado com COV de 10 kg DQO/m<sup>3</sup>.d e TDH de 144 horas, conseguiu remover 80% da matéria orgânica do LCCV, reduzindo também em 48% da concentração de taninos totais.
- O SLA, operado com COV de 2,3 kg DQO/m<sup>3</sup>.d e TDH de 641 horas, conseguiu remover 82% da matéria orgânica do LCCV, reduzindo apenas 77% da concentração de taninos totais.
- O RBF, operado com COV de 2,5 kg DQO/m<sup>3</sup>.d e TDH de 384 horas, conseguiu remover 90% da matéria orgânica do LCCV, reduzindo apenas 15% da concentração de taninos totais.

# Referências

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for examination of water and wastewater**. 19. ed. Washington DC: American Public Health Association: American Water Works Association: Water Pollution Control Federation, 2005.

AGGELIS, G. G.; GAVALA, H. N.; LYBERATOS, G. Combined and separate aerobic and anaerobic biotreatment of green olive debittering wastewater. **Journal of Agricultural Engineering Research**, v. 80, n. 3, p. 283-292, 2001.

AHN, D. H.; CHUNG, Y. C.; YOO, Y. J.; PAK, D. W.; CHANG, W. S. Improved treatment of tannery wastewater using *Zoogloea ramigera* and its extracellular polymer in an activated sludge process. **Biotechnology Letters**, v. 18, n. 8, p. 917-922, 1996.

ALVES, M. M. A new device to select microcarries for biomas immobilization to an anaerobic consortium. **Water Environment Research**, v. 71, n. 2, p. 209-217, 1999.

AOKI, K.; SHINKE, R.; NISHIRA, H. Purification and some properties of yeast tannase. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 40, n. 1, p. 79-85, 1976.

AQUINO, S. F.; STUCKEY, D. C. Characterization of soluble microbial products (SMP) in effluents from anaerobic reactors. **Water Science and Technology**, v. 45, n.10, p. 127-132, 2002.

ARAÚJO, W. N.; SILVA, M. H.; MARTINEZ, T. C. N.; BANAS, S. L. B.; SILVEIRA, V. F. Determinação do número de fungos filamentosos e leveduras no queijo Minas comercializado na região metropolitana de Salvador – Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 2, n. 1, p. 10-14, 2001.

ARTHAUD, I. D. B.; FÉLIX, J. P. L.; NETO, M. de A. F.; LOTUFO, L. V. C.; TÉDDE, S. S. Avaliação da redução de toxicidade de efluentes de indústria petroquímica após

tratamento em reator de leito fixo e fluxo contínuo inoculado com *Aspergillus niger*. In: KATO, M. T. (Org.). Gestão e tratamento de resíduos líquidos gerados na cadeia produtiva do petróleo. Recife: Editora UFPE, 2006, p. 199-210. 1a. Coletânea de Trabalhos Técnicos.

ARUNACHALAM, M.; MOHAN RAJ, M.; MOHAN, N.; MAHADEVAN, A. Biodegradation of Catechin. **Proceedings Indian National Science Academy**. No. 4, pp 353-370, 2003.

BAJPAL, B.; PALT, S. Tannin acyl hydrolase activity of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* and *Trichoderma*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. v. 12, p. 217-220, 1996.

BANKS, C. J.; WANG, Z. Development of a two phase anaerobic digester for the treatment of mixed abattoir wastes. **Water Science and Technology**. v. 40, n. 1, p.69-76, 1999.

BARR, T. A.; TAYLOR, J. M.; DUFF, S. J. B. Effect of HRT, SRT and temperature on the performance of activated sludge reactors treating bleached kraft mill effluent. **Water Research**, v. 30, n. 4, p. 799-810, 1996.

BATRA, A.; SAXENA, R. K. Potential tannase producers from the genera *Aspergillus* and *Penicillium*. **Process Biochemistry**. v. 40, p. 1553-1557, 2005.

BATSTONE, D. J.; KELLER, J.; ANGELIDAKI, I.; KALYUZHNYI, S. V.; PAVLOSTATHIS, S. G. E ROZZI, A.; SANDERS, W. T. M.; SIEGRIST, H.; VAVILIN, V. A. The IWA Anaerobic Digestion Model No 1 (ADM1). **Water Science and Technology**. v. 45, n. 10, p. 65-73, 2002.

BELLAVER, L. H.; CARVALHO, N. M. B. de; ABRAHÃO NETO, J.; GOMBERT, A. K. Ethanol formation and enzyme activities around glucose-6-phosphate in *Kluyveromyces marxianus* CBS 6556 exposed to glucose or lactose excess. **FEMS Yeast Research**, v. 4, p. 691-698, 2004.

BEHLING, E.; DIAZ, A.; COLINA, G.; HERRERA, M.; GUTIERREZ, E.; CHACIN, E.; FERNANDEZ, N.; FORSTER, C. F. Domestic wastewater treatment using a UASB reactor. **Bioresource Technology**, v. 61, n. 3, p. 239-245, 1997.

BENINCASA, M.; ORTOLANI, A. F.; LUCAS JÚNIOR, J. **Biodigestores convencionais**. Jaboticabal: UNESP, 1991. 25 p. (Boletim Técnico, 8).

BENITEZ, F. J.; ACERO, J. L.; GARCIA, J.; LEAL, A. I. Purification of cork processing wastewaters by ozone, by activated sludge, and by their two sequential applications. **Water Research**, Great Britain, v. 37, p. 4081-4090, 2003a.

BENITEZ, F. J.; REAL, F. J.; ACERO, J. L.; GARCIA, J.; SANCHEZ, M. Kinetics of the

ozonation and aerobic biodegradation of wine vinasses in discontinuous and continuous processes. **Journal of Hazardous Materials**, v. 101, p. 203-218, 2003b.

BHAT, T. K.; SINGH, B.; SHARMA, O. P. Microbial degradation of tannins: a current perspective. **Biodegradation**, v. 9, p. 343-357, 1998.

BIRCH, R. R.; BIVER, C.; CAMPAGNA R.; GLEDHILL W. E.; PAGGA U.; STEBER J.; REUST, H.; BONTINCK W. J. Screening of chemicals for anaerobic biodegradability. **Chemosphere**, v. 19, n. 10/11, p.1527-1550, 1989.

BORJA, R.; MARTIN, A.; ALONSO, V.; GARCÍA, I. E BANKS, C. G. Influence of different aerobic pretreatments on the kinetics of anaerobic digestion of olive mill wastewater. **Water Research**, v. 29, n. 2, p. 489-495, 1995.

BRADDOO, S.; GUPTA, R.; SAXENA, R. K. Screening of extracellular tannase producing fungi: development of a rapid and simple plate assay. **Journal of General and Applied Microbiology**, v. 42, p. 325-329, 1996.

BRENES, M.; GARCÍA, P.; ROMERO, C.; GARRIDO, A. Treatment of green table olive waste waters by an activated-sludge process. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 75, p. 459-463, 2000.

BREURE, A.; van ANDEL, J. G. Hydrolysis and acidogenic fermentation of a protein gelatin in anaerobic conditions culture. **Applied Microbiology and Biotechnology**. v. 20, p. 40-45, 1984.

BRÍGIDA, A. I. S.; ROSA, M. F. **Determinação do teor de taninos na casca de coco-verde (*cocos nucifera* L.)**. In: PROCEEDINGS OF THE INTERAMERICAN SOCIETY FOR TROPICAL HORTICULTURE, Fortaleza. v. 47, p. 25-27, 2003.

BUCHAUER, K. A. A comparison of two simple titration procedures to determine volatile fatty acids in effluents to wastewater and sludge treatment processes. **Water SA**, v. 1, n. 24, p. 49-56, 1998.

CAIXETA, C. E. T.; CAMMAROTA, M. C.; XAVIER, A. M. F. Slaughterhouse wastewater treatment: evaluation of a new three-phase separation system in a UASB reactor. **Bioresource Technology**, v. 81, p.61-69, 2002.

CAVALCANTI, P. F. F. **Integrated Application of the UASB reactor and Ponds for domestic Sewage Treatment in Tropical Regions**. 2003. 141 f. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental). Sub-Department of Environmental Technology, Wageningen University, Wageningen, Netherlands, 2003.

CERVANTES, F. J.; DIJKSMA, W.; DUONG-DAC, T.; IVANOVA, A.; LETTINGA, G.;

FIELD, J. A. Anaerobic mineralization of toluene by enriched sediments with quinones and humus as terminal electron acceptors. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, n. 10, p. 4471-4478, 2001a.

CERVANTES, F. J.; VAN DER ZEE, F. P.; LETTINGA, G.; FIELD, J. A. Enhanced decolourisation of acid orange 7 in a continuous UASB reactor with quinones as redox mediators. **Water Science and Technology**, v. 44, n. 4, p. 123-128, 2001b.

CERVANTES, F. J.; DUONG-DAC, T.; ROEST, K.; AKKERMANS, A. D. L.; LETTINGA, G.; FIELD, J. A. Enrichment and immobilization of quinone-respiring bacteria in anaerobic granular sludge. **Water Science and Technology**, v. 48, n. 6, p. 9-16, 2003.

CERVANTES, F. J.; VU-THI-THUY, L.; LETTINGA, G.; FIELD, J. A. Quinone-respiration improves dechlorination of carbon tetrachloride by anaerobic sludge. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 64, 702-711. 2004.

CHAGGU, E. J. **Sustainable Environmental Protection Using Modified Pit-Latrines**. 2004. 141f. Tese (Doutorado em Ciências Ambientais). Wageningen University, Wageningen, Holanda.

CHAMORRO, S.; XAVIER, C. R.; VIDAL, G. Behavior of aromatic compounds contained in kraft mill effluents treated by an aerated lagoon. **Biotechnology Progress**, v. 21, p. 1567-1571, 2005.

CHEN, K.; LIN, Y.; CHEN, W.; LIU, Y. Degradation of phenol by PAA-immobilized *Candida tropicalis*. **Enzyme and Microbial Technology**. v. 31, p. 490-497, 2002.

CHERNICHARO, C. A. L.; VAN HAANDEL, A.; AISSE, M. M.; CAVALCANTI, P. F. F. Reatores anaeróbios de manta de lodo. In: CAMPOS, J. R. (Coord.). **Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no solo**, Rio de Janeiro: ABES, 1999. p.155-198. Projeto PROSAB.

CHERNICHARO, C. A. L. **Reatores anaeróbios**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária-UFMG, 1997. 246 p. (Série: Princípios do tratamento biológico de águas residuárias, v. 5).

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução Conama nº 357, de 17 de março de 2005. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 mar. 2005. Seção 1, p. 58-63.

DAMRONGLERD, S.; SUPAKA, N.; JUNTONGJIN, K.; CHAREONPORNWATTANA, S.; DELIA, M.; STREHAIANO, P. Humic substance enhanced anaerobic reduction of sulfonated azo dyes by *Paenibacillus* sp. Strain A5. **The Journal of the Royal Institute of Thailand**, v. 30, n. 1, p. 58-75, 2005.



D'ANNIBALE, A.; CRESTINI C.; VINCIGUERRA, V.; SERMANI, G. G. The biodegradation of recalcitrant effluents from an olive mill by a white-rot fungus. *Journal of Biotechnology*, v. 61, p. 209-218. 1998.w

DESCHAMPS, A. M.; LEBEAULT, J. M. Production of gallic acid from tara (*Caesalpinia spinosa*) tannin by bacterial strains. **Biotechnology Letters**, v. 6. n. 4, p. 237-241, 1984.

DIAS, A. A.; BEZERRA R. M.; PEREIRA A. N.; Activity and elution profile of laccase during biological decolorization and dephenolization of olive mill wastewater. **Bioresource Technology**, v. 92, p. 7-13. 2004.

DIEZ, M. C.; CASTILLO, G.; AGUILAR, L.; VIDAL, G.; MORA, M. L. Operational factors and nutrient effects on activated sludge treatment of Pinus radiata kraft mill wastewater. **Bioresource Technology**, v. 83, p.131-138, 2002.

DI IACONI, C.; LOPEZ A.; RAMADORI, R.; DI PINTO A. C.; PASSINO R. Combined chemical and biological degradation of tannery wastewater by a periodic submerged filter (SBBR). **Water Research**, v. 36, p. 2205-2214, 2002.

SANTOS, A. B. dos; BISSCHOPS, I. A. E.; CERVANTES, F. J.; VAN LIER, J. B. Effect of different redox mediators during thermophilic azo dye reduction by anaerobic granular sludge and comparative study between mesophilic (30 °C) and thermophilic (55 °C) treatments for decolourisation of textile wastewaters. **Chemosphere**, v. 55, n. 9, p. 1149-1157, 2004.

DRAPER, N.; SMITH, H. **Applied regression analysis**. New York: John Wiley and Sons, 1981. 710 p.

EUSÉBIO, A.; MATEUS, M.; BAETA-HALL, L.; SAÁGUA, M. C.; TENREIRO, R.; ALMEIDA-VARA, E.; DUARTE, J. C. Characterization of the microbial communities in jet-loop (JACTO) reactors during aerobic olive wastewater treatment. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 59, p. 226-233, 2007.

FACÓ, A. M. **Tratamento de percolado de aterro sanitário através de processo biológico com fungos**. 2002. 113 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental) – Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

FANG, H. H. P.; CHUI, H.; LI, Y.; CHEN, T. Degradation of Fenol in an upflow anaerobic sludge blanket reactor. **Water Research**, v. 30, n. 6, p. 1356-1360, 1996.

FÉLIX, J. P. L. **Remoção de DQO e fenóis totais de água residuária de refinaria de petróleo aplicando reatores aeróbios inoculados com *Aspergillus niger***. 2005. 95 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento

Ambiental) – Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

FÉLIX, J. P. L. et al. Remoção de DQO e fenóis totais presentes em efluentes de indústria petrolífera utilizando reatores de leito fixo e fluxo contínuo inoculados com *Aspergillus niger* AN 400. In: KATO, M. T. (Org.). **Gestão e tratamento de resíduos líquidos gerados na cadeia produtiva do petróleo**. Recife: Editora da UFPE, 2006, p. 183-198. 1ª Coletânea de Trabalhos Técnicos.

FERNÁNDEZ, J. M.; OMIL, F.; MÉNDEZ, R.; LEMA, J. M. Anaerobic treatment of fibreboard manufacturing wastewaters in a pilot scale hybrid USBF reactor. **Water Research**, v. 35, n. 17, p. 4150-4158, 2001.

FIELD, J. A.; KORTEKAAS, S.; LETTINGA, G. The tannin theory of methanogenic toxicity. **BIOL. WASTES**, vol. 29, n. 4, pp. 241-262, 1989.

FIELD, J. A.; LETTINGA, G. The methanogenic toxicity and anaerobic degradability of a hydrolyzable tannin. **Water Research**, v. 21, n. 3, p. 367-374, 1987.

FIELD, J. A.; LEYENDECKERS, M. J. H.; SIERRA-ALVAREZ, R.; LETTINGA, G.; HABETS, L. H. A. Methanogenic toxicity of bark tannins and the anaerobic biodegradability of water soluble bark matter. **Water Science and Technology**, v. 20, n. 1, p. 219-240, 1988.

FIELD, J. A. Limits of anaerobic biodegradation. **Water Science and Technology**, v. 45, n. 10, p. 9-18, 2002.

FONGASTITKUL, P.; MAVINIC, D. S.; LO, K. V. A two-phased anaerobic digestion process: concept, process failure and maximum system loading rate. **Water Environment Research**, v. 66, n. 3, p. 243-254, 1994.

FOUNTOULAKIS, M. S.; DOKIANAKIS, S. N.; KORNAROS, M. E.; AGGELIS, G. G.; LYBERATOS G. Removal of phenolics in olive mill wastewater using then white-rot fungus *Pleurotus ostreatus*. **Water Research**, v. 36, p. 4735-4744, 2002.

FRANTA, J.; HELMREICH, B.; PRIBYL, M.; ADAMIETZ, E.; WILDERER, P. A. Advanced biological treatment of papermill wastewaters; effects of operation conditions on COD removal and production of soluble organic compounds in activated sludge systems. **Water Science and Technology**, v. 30, n. 3, p. 199-207, 1994.

FRANTA, J. R.; WILDERER, P. A. Biological treatment of papermill wastewater by sequencing batch reactor technology to reduce residual organics. **Water Science and Technology**, v. 35, n. 1, p. 129-136, 1997.

FREITAS NETO, M. A. **Remoção de nitrito, nitrato e amônia de efluentes de indústrias petrolíferas através de reatores biológicos com fungos inoculados com *Aspergillus niger***. 2005. 90 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental) – Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.

FREITAS NETO, M. A.; LEITE FÉLIX, J. P.; LEITÃO, R. C.; SANTAELLA, S. T. Emprego de reatores biológicos com fungos para remoção de compostos nitrogenados presentes em efluentes de indústria petroquímica. In: KATO, M. T. (Org.). **Gestão e tratamento de resíduos líquidos gerados na cadeia produtiva do petróleo**. Recife: Editora da UFPE, 2006, p. 167-182. 1ª Coletânea de Trabalhos Técnicos.

FREITAS NETO, M. A. **Tratamento biológico do líquido da casca do coco-verde**. 2007. Tese (Doutorado em Saneamento Ambiental) – Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

FRIGON, J. C.; CIMPOIA, R.; GUIOT, S. R. Sequential anaerobic/aerobic biotreatment of bark leachate. **Water Science and Technology**, v. 48, n. 6, p. 203-209, 2003.

FU, Y.; VIRAGHAVAN, T. Removal of Congo Red from an aqueous solution by fungus *Aspergillus niger*. **Advances in Environmental Research**, v. 7, n. 1, p. 239-247, 2002.

GANESH, R.; BALAJI, G.; RAMANUJAM, R. A. Biodegradation of tannery wastewater using sequencing batch reactor – Respirometric assessment. **Bioresource Technology**, v. 97, p. 1815-1821, 2006.

GARCÍA G., I.; JIMENEZ, P. P. R.; BONILLA, V. J. L.; MARTIN, M. A.; MARTIN, S. M. A.; RAMOS, G. A. Removal of phenol compounds from olive mill wastewater using *Phanerochaete chrysosporium*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus* and *Geotrichum candidum*. Process Biochemistry. **Water Research**, v. 33, p. 751-758, 2000.

GIFFONI, D. A. **Filtros biológicos aplicados ao tratamento de água residuária sintética de laticínios**. 2000. 159 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental) – Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2000.

GIJZEN, H. J.; SCHOENMAKERS, T. J. M.; CAERTELING, C. G. M.; VOGELPS, G. D. Anaerobic degradation of papermill sludge in a two-phase digester containing rumen microorganisms and colonized polyurethane foam. **Biotechnology Letters**, v. 10, n. 1, p. 61-66, 1988.

GODJEVARGOVA, T.; IVANOVA, D.; ALEXIEVA, Z.; DIMOVA, N. Biodegradation of

toxic organic components from industrial phenol production waste water by free and immobilized *Trichosporon cutaneum* R57. **Process Biochemistry**, v. 38 p. 915-920. 2003.

CHERCHINARO, C. A. L. (Coord.). **Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios: aspectos metodológicos**. Belo Horizonte: [s. n.], 2001. Cap. 4, 118 p.

GRIFFIN, D. H. **Fungal Physiology**. New York: Wiley-Liss, 1994, 458 p.

GUERRERO, L.; ALKALAY, D.; KERA, M. Biodegradabilidad anaerobia de los efluentes residuales de una fábrica de chocolates. In: SEMINARIO-TALLER LATINO AMERICANO SOBRE TRATAMIENTO ANAEROBIO DE AGUAS RESIDUALES 4., Bucaramanga-Colombia. **Anais...** Bucaramanga: [s. n.], 1996.

GUIMARÃES, C.; PORTO, P.; OLIVEIRA, R.; MOTA, M. Continuous decolorization of a sugar refinery wastewater on a modified rotating biological contactor whit *Phanerochaete chrysosporium* immobilized on polyurethane foam disks. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 535-540. 2005.

HAMDI, M.; GARCIA, J. L. Anaerobic digestion of olive mill wastewaters after detoxification by prior culture of *Aspergillus niger*. **Process Biochemistry**, v. 28, n. 3, p.155-159, 1993.

HOPPER, W.; MAHADEVAN, A. Degradation of catechin by *Bradyrhizobium japonicum*. **Biodegradation**, v. 8, p. 159-165, 1997.

ISIDORI, M.; LAVORGNA, M.; NARDELLI, A.; PARRELLA, A. Chemical and toxic evaluation of a biological treatment for olive-oil mill wastewater using commercial microbial formulations. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 64, n. 5, p. 735-739, 2004.

JOU, C. G.; HUANG, G. A pilot study for oil refinery wastewater treatment using a fixed-film bioreactor. **Advances in Environmental Research**, v. 7, p. 463-469. 2003.

KAPDAN, I. K.; KARGIA, F.; McMULLAN, G.; MARCHANT, R. Effect of environmental conditions on biological decolorization of textile dyestuff by *C. versicolor*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 26, p. 381- 387. 2000.

KATO, M. T.; NETO, C. O. A.; CHERNICHARO, C. A. L.; FORESTI, E.; CYBIS, L. F. Configurações de reatores anaeróbios. In: CAMPOS, J. R. (Coord.). **Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no solo**, Rio de Janeiro: ABES, 1999. p. 53-99. Projeto PROSAB.

KORTEKAAS, S.; VIDAL, G.; YAN-LING, H.; LETTINGA, G.; FIELD, J. A. Anaerobic-aerobic treatment of toxic pulping black liquor with upfront effluent recirculation. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 86, n. 1, p. 97-110, 1998.

KYRIACOU, A.; LASARIDI, K. E.; KOTSOU, M.; BALIS, C.; PILIDIS, G. Combined bioremediation and advanced oxidation of green table olive processing wastewater. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 1401-1408, 2005.

KLINKOW, N.; OLEKSY-FRENZEL, J.; JEKEL, M. Toxicity-directed fractionation of organics compounds in tannery wastewater with regard to their molecular weight and polarity. **Water Research**, v. 32, n. 9, p. 2583-2592, 1998.

LAZARETTI, E.; CAMPOS, A. F.; NOGUEIRA, J. C. B. Efeito da adição de microrganismos (bioaumento) em uma estação de tratamento de efluentes por lodo ativado em uma indústria de papel e celulose. In: CONGRESSO INTERAMERICANO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 27., 2000, Porto Alegre. **Anais...** Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2000.

LEITÃO, R. C. **Robustness of UASB reactors treating sewage under tropical conditions**. 2004. Tese (Doutorado em Ciências Ambientais). Wageningen University, Wageningen, Holanda. 2004.

LETTINGA, G.; VAN VELSEN, A. F. M.; HOBMA, S. W.; ZEEUW, W.; KLAPWIJK, A. Use of the upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological wastewater treatment especially anaerobic treatment. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 22, n. 4, p. 699-734, 1980.

LÓPEZ-FIUZA, J.; OMIL, F.; MÉNDEZ, R. Anaerobic treatment of natural tannin extracts in UASB reactors. **Water Science and Technology**. v. 48, n. 6, p. 157-163, 2003.

LOVLEY, D. R.; FRAGA J. L.; COATES J. D.; BLUNT-HARRIS E. L. Humics as an electron donor for anaerobic respiration. **Environ. Microbiol.**, v. 1, p. 89-98, 1999.

LOWRY, O. H.; ROSEMBROUH, N. J.; FARR, A. L. Protein measurement with folin fenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 170, n. 23, p. 265-270, 1947.

MACÉ, S.; DOSTA, J.; GALÍ, A.; MATA ALVAREZ, J. Optimization of biological nitrogen removal via nitrite in a SBR treating supernatant from the anaerobic digestion of municipal solid wastes, **Industrial and Engineering Chemistry Research**. v. 45, p. 2787-2792, 2006.

MARINS, M. D. M.; URURAHY, A. F. P.; PEREIRA JUNIOR, N. Boletim Técnico Petrobras, v. 41, n. 3/4, p.125-132, 2003.

MEDEIROS, G. J. D. Eficiência de dois sistemas UASB-RBF empregando diferentes meios suporte, para o tratamento de efluentes da indústria de castanha do caju. 2003. 90 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental) – Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2003.

MEHROTRA, I.; KUMAR, P.; GALI, V. Treatment of phenolic wastewater using upflow anaerobic sludge blanket reactor. Proceedings of National Conference on Biological Treatment of Wastewater and Waste Air, August 28 and 29, Regional Research Laboratory (CSIR), Trivandrum, India. 2003.

MENDONÇA, M. C. M.; KATO, M. T.; FLORENCIO, L. Caracterização e tratabilidade de resíduos líquidos gerados em terminais de armazenamento de derivados de petróleo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 22., 2003, Santa Catarina. **Anais...** Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2003.

METCALF & EDDY. **Wastewater Engineering: treatment and reuse**. Nova York: McGraw-Hill, 2003, p. 1819.

MEULENBERG, R.; RIJNAARTS, H. H.; DODDEMA, H. J.; FIELD, J. A. Partially oxidized polycyclic aromatic hydrocarbons show an increased bioavailability and biodegradability. **FEMS Microbiology Letters**, v. 152, p. 45-49, 1997.

MGANA, S. M. Towards sustainable and robust on-site domestic wastewater treatment for all citizens. 2003. 95 f. Tese (Doutorado em Ciências Ambientais). Wageningen University, Wageningen, Holanda.

MIELGO, I.; MOREIRA, M. T.; FEIJOO G.; LEMA, J. M. .Biodegradation of a polymeric dye in a pulsed bed bioreactor by immobilised *Phanerochaete chrysosporium*. **Water Research**, v. 36, p. 1896-1901. 2002.

MINGSHU, L.; KAI, Y.; QIANG, H.; DONGYING, J. Biodegradation of gallotannins and ellagitannins. **Journal of Basic Microbiology**, v. 46, n. 1, p. 68-84, 2006.

MIRANDA, M. P.; BENITO, G. G.; CRISTOBAL, S. N.; NIETO. C. H. Color elimination from molasses wastewater by *Aspergillus niger*. **Bioresource Technology**, v. 57, p. 229-235. 1996.

MONDAL, K. C.; PATI, B. R. Studies on the extracellular tannase from newly isolated *Bacillus licheniformis* KBR 6. **Journal of Basic Microbiology**, v. 4, p. 223-232, 2000.

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; ARAÚJO, E. L. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005.

MORENO, G.; CRUZ. A.; BUITRÓN, G. Influence of So/Wo ratio on anaerobic activity test. **Water Science and Technology**, v. 40, n. 8, p. 169-176, 1999.

MYRVIK, Q. N.; WEISER, R. S. **Fundamentals of medical bacteriology and mycology**. 2. ed. Philadelphia, USA: Lea & Febiger, 1988, 585 p.

NAGARATHNAMMA, R.; BAJPAI, P. Descolorization and detoxification of extraction-

stage effluent from chlorine bleaching of kraft pulp by *Rhizopus oryzae*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 3, p. 1018-1082, 1999.

NELSON, K. E. PELL, A. N.; DOANE, P. H.; GINER-CHAVEZ, B. I.; SHOFIELD, P. Chemical and biological assays to evaluate bacterial inhibition by tannins. **Journal of Chemical Ecology**, v. 23, n. 4, p. 1175-1194, 1997.

Nikolay Vassilev, Massimiliano Feniceb, Federico Federicib and Rosario Azcona. Olive mill waster water treatment by immobilized cells of *Aspergillus niger* and its enrichment with soluble phosphate

NOZELLA, E. F. **Determinação de taninos em plantas com potencial forrageiro para ruminantes**. 2001. 58 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

OLIVEIRA, E. C.; LEITE FÉLIX, J. P.; LEITÃO, R. C.; MELO, V. M. M.; SANTAELLA, S. T. Degradação de fenóis por leveduras presentes em águas residuárias de refinarias de petróleo. In: KATO, M. T. (Org.). **Gestão e tratamento de resíduos líquidos gerados na cadeia produtiva do petróleo**. Recife: Editora da UFPE, 2006, p. 133-148. 1ª Coletânea de Trabalhos Técnicos.

OSAWA, R.; KUROISO, K.; GOTO, S.; SHIMIZU, A. Isolation of tannin-degrading *Lactobacilli* from humans and fermented foods. **Applied Environmental Microbiology**, v. 66, n. 7, p. 3093-3097, 2000.

ÖZACAR, M.; SENGİL, A. Effectiveness of tannins obtained from valonia as a coagulant aid for dewatering of sludge. **Water Research**, v. 34, n. 4, p. 1407-1412, 2000.

PARALES, R. E.; HADDOCK, J. D. Biocatalytic degradation of pollutants. **Current Opinion Biotechnology**, v. 15, n. 4, p. 374-379, ago. 2004.

PELILLO, M.; RINCÓN, B.; RAPOSO, F.; MARTÍN, A.; BORJA, R. Mathematical modeling of the aerobic degradation of two-phase olive mill effluents in a batch reactor. **Biochemical Engineering Journal**, v. 30, p. 308-315, 2006.

PENNA, J. A. **Estudo da metodologia do teste de atividade metanogênica específica**. 1994. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

PETRUCCIOLI, M.; DUARTE, J. C.; EUSEBIO, A.; FEDERICI, F. Aerobic treatment of winery wastewater using a jet-loop activated sludge reactor. **Process Biochemistry**, v. 37, p. 821-829, 2002.

PINTO, G. A. S.; LEITE, S. G. F.; TERZI, S. C.; COURI, S. Selection of tannase producing *Aspergillus niger* strains. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 32, p. 24-26, 2001.

PINTO, G. A. S. **Produção de tanase por *Aspergillus niger***. 2003. 208 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos), Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2003.

PITARCH, A.; SÁNCHEZ, M.; NOMBELA, C.; GIL, C. Sequential fractionation and two dimensional gel analysis unravels the complexity of the dimorphic fungus *Candida albicans* cell wall proteome. **Molecular Cells Proteomics**, v. 1, p. 967, 2002.

PIVELI, R. P. **Tratamento de esgotos sanitários**. Maceió: [s. n.], 2005, 71 p. Apostila.

POERSCH, P. B.; KOETZ, P. R. Sistema de determinação da atividade metanogênica específica de lodos anaeróbios. **Agrociência**, v. 4, n. 3, p. 161-165. 1998.

PORTO, M. T. R. **Estudo de um filtro biológico percolador utilizado para o pós-tratamento de efluentes de um reator UASB, com ênfase da altura do meio suporte sobre a estabilidade do sistema**. 2002. 151 p. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 2002.

QUEIROZ, C. R. A. A.; MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A. Caracterização dos taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*). **Revista Árvore**, v. 26, n. 4, p. 485-492, 2002.

RATUSZNEI, S. M.; RODRIGUES, J. A. D.; CAMARGO, E. F. M.; ZAIAT, M.; BORZANI, W. Feasibility of a stirred anaerobic sequencing batch reactor containing immobilized biomass for wastewater treatment. **Bioresource Technology**, v. 75, n. 2, p. 127-132, 2000.

RAZO-FLORES, E.; LUIJTEN, M.; DONLON, B. A.; LETTINGA, G.; FIELD, J. A. Complete Biodegradation of the Azo Dye Azodisalicylate under Anaerobic Conditions. **Environmental Science & Technology**, v. 31, n. 7, p. 2098-2103, 1997.

RICCO, G.; TOMEI, M. C.; RAMADORI, R.; LAERA, G. Toxicity assessment of common xenobiotic compounds on municipal activated sludge: comparison between respirometry and Microtox®. **Water Research**, v. 38, p. 2103-2110, 2004.

RIPLEY, L. E.; BOYLE, W. C.; CONVERSE, J. C. Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. **Journal of Water Pollution Control Federation.**, v. 58, n. 5, p. 406-411, 1986.

RYU, H.; LEE, S.; CHUNG, K. Chemical oxygen demand removal efficiency of biological treatment process treating tannery wastewater following seawater flocculation. **Environmental Engineering Science**, v. 24, n. 3, p. 394-399, 2007.



ROBERTS, E. A. H. The fermentation process in tea manufacture. Some general conclusions. **Biochemistry**, v. 35, n. 10-11, p. 1209-1224, 1941.

ROCHA, M. A. G. **Estudos da atividade metanogênica de lodos e da biodegradabilidade anaeróbia de efluentes de indústrias de bebidas**. 2003. 120 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Pós-graduação em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

RODRIGUES, K. A. **Tratamento biológico de água residuária sintética de laticínios por decomposição fúngica**. 1999. 113 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental) – Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

RODRIGUES, K. A. **Uso de reatores biológicos com fungos para remoção de fenol de água residuária sintética**. 2006. 125 f. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento). Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo, São Carlos.

SÁ, I. M. B. **Biotratamento da água residuária de uma indústria de laticínios por ação de fungos decompositores**. 1997. 93 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental) – Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

SAS INSTITUTE INC. **SAS/STAT user's guide**: version 8. Cary, NC: SAS Institute Inc, 2000. 1464 p.

SAMPAIO, M. M. S.; SANTOS, E. M. A.; LEITÃO, R. C., FACÓ, A. M.; MENEZES, E. A.; SANTAELLA, S. T. Pós-tratamento de efluente de um reator UASB através de um reator biológico com fungos. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 9, n. 1, p. 73- 81, 2004.

SAMPAIO, G. M. M. S. **Remoção de metil paration e atrazina em reatores com fungos**. Tese (Doutorado em Engenharia Civil, Hidráulica e Saneamento), Escola de Engenharia de São Carlos – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.

SANTAELLA, S. T.; SOUSA, O. L.; LOPES, A. C.; OLIVEIRA, E. C.; SALEK, J. M. Remoção de fenol em reatores biológicos com fungos (RBF) utilizando meio suporte e água residuária sintética. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 23., Campo Grande-MT, 2005.

SANTOS, E. M. A. **Otimização do tempo de detenção de um sistema UASB seguido de um filtro biológico com fungos para tratar efluentes de indústria de castanha de caju**. 2001. 129 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental) – Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2001.

SANTOS, A. S. P. **Avaliação de desempenho de um filtro biológico percolador em diferentes meios suporte plásticos**. 2005. 81 f. (Dissertação – Mestrado em Engenharia Civil) – Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2005.

SANTOS, V. L.; LINARDI, V. R. Biodegradation of phenol by a filamentous fungi isolated from industrial effluents – identification and degradation potencial. **Process Biochemistry**, v. 39, p. 1001-1006, 2004.

SAROJ, D. P.; KUMAR, A.; BOSE, P.; TARE, V.; DHOPAVKAR, Y. Mineralization of some natural refractory organic compounds by biodegradation and ozonization. **Water Research**, v. 39, p. 1921-1933, 2005.

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, v. 30, n. 12, p. 3875-3883, 1991.

SEGHEZZO, L.; ZEEMAN, G.; VAN LIER, J. B. ; HAMELERS, H. V. M.; LETTINGA, G. A review: The anaerobic treatment of sewage in UASB and EGSB reactors. **Bioresource Technology**, v. 65, p. 175-190, 1998.

SILVA FILHO, E. B.; MOTA SOBRINHO, M. A.; HAADEL, A. V.; CAVALCANTI, P. F. F.; SILVA, V. L. Avaliação da respirometria para determinação da demanda bioquímica de oxigênio. In: SIMPÓSIO LUSO-BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 11., 2004. Natal. **Anais...** Natal: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2004.

SILVA, N.; AMSTALDEN, V. C. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1997. 154 p.

SPEECE, R. E. **Anarobic biotechnology for industrial wastewaters**. Vanderbilt: Archae, 1995.

SOTO, M.; MÉNDEZ, R.; LEMA, J. M. Methanogenic and non-methanogenic activity tests. Theoretical basis and experimental set up. **Water Research**, v. 27, n. 8, p. 1361-1376, 1993.

SOUSA, O. L.; SANTAELLA, S. T.; OLIVEIRA, E. C.; SALEK, J. M.; MELO, V. M. M. Tratamento biológico de águas residuárias de indústria petroquímica através de reatores biológicos inoculados com "*Candida* sp". In: KATO, M. T. (Org.). **Gestão e tratamento de resíduos líquidos gerados na cadeia produtiva do petróleo**. Recife: Editora da UFPE, 2006, p. 149-166. 1ª Coletânea de Trabalhos Técnicos.

SUVILAMPI, J. E.; RINTALA, J. A. Pilot scale comparison of thermophilic aerobic suspended carrier biofilm process and activated sludge process in pulp and paper effluent treatment. **Water Science and Technology**, v. 50, n. 3, p. 95-102, 2004.

TEIXEIRA, R. B. **Fermentação alcoólica utilizando o líquido da casca do coco-verde como nutrientes**. 2007. 105 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2007.

TORKIAN, A.; EQBALI, A.; HASHEMIAN, S. J. The effect of organic loading rate on the performance of UASB reactor treating slaughterhouse effluent. **Resources, Conservation and Recycling**, v.40, n.1, p.1-13, 2003.

TUITE, J. **Plant pathological methods**. Lafayette: Burgess, 1969, 239 p.

VAN HAANDEL, A. C.; LETTINGA, G. **Anaerobic sewage treatment: a practical guide for regions with a hot climate**. Chichester: John Wiley & Sons, 1994, pp. 226.

VAN HAANDEL, A. C.; MARAIS, G. **O comportamento do sistema de lodo ativado: teoria e aplicações para projetos e operação**. Campina Grande: Epgraf, 1999.

VARESCHE, M. B.; ZAIAT, M.; VIEIRA, L. G. T.; VAZOLLER, R. F.; FORESTI, E. Microbial colonization of polyurethane foam matrices in horizontal-flow anaerobic immobilized-sludge reactor. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 48, p. 534-538, 1997.

VASSILEV, N.; FENICE, M.; FEDERICI, F.; AZCON, R. Olive mill waste water treatment by immobilized cells of *Aspergillus niger* and its enrichment with soluble phosphate. **Process Biochemistry**, v. 32, n. 7, p. 617-620, 1997.

VEERESH, G. S.; KUMAR, P.; MEHROTRA, I. Treatment of phenol and cresols in upflowanaerobic sludge blanket (UASB) process: a review. **Water Research**, v. 39, 154-170, 2005.

VELIOGLU, S. G.; CURI, K.; ÇAMLILAR, S. R. Activated sludge treatability of olive oil-bearing wastewater. **Water Research**, v. 26, n. 10, p. 1415-1420, 1992.

VIDAL, G.; DIEZ, M. C. Methanogenic toxicity and continuous anaerobic treatment of wood processing effluents. **Journal of Environmental Management**, v. 74, p. 317-325, 2005.

VIDAL, G.; VIDELA, S.; DIEZ, M. C. Molecular weight distribution of *Pinus radiata* kraft mill wastewater treated by anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, v. 77, n. 2, p.183-191, 2001.

VIEIRA, M. J.; MELO, L. F. Intrinsic Kinetics of biofilms formed under turbulent flow and low substrate concentrations. **Bioprocess Engineering**, n. 20, p. 369-375, 1999.

VIEIRA, L. G. T.; FAZOLO A.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. Desenvolvimento de reator de leito fixo para remoção de nitrogênio de esgoto sanitário pré-tratado em reator anaeróbio. In: CHERCHINARO, C.A.L. (Org.). **Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios**. Coletânea de trabalhos técnicos, vol.1, p.135-142, 2000.

VIJAYARAGHAVAN, K.; MURTHY, D. V. S. Effect of toxic substances in anaerobic treatment of tannery wastewater. **Bioprocess Engineering**, v. 15, p. 351-355, 1997.

VIJAYARAGHAVAN, K. E RAMANUJAM, T.K. Effect of chloride and condensable tannin in anaerobic degradation of tannery wastewaters. **Bioprocess Engineering**, v. 20, n. 6, p. 499-503, 1999.

WIEGANT, W. M.; KALKER, T. J. J.; SONTAKKE, V. N. E ZWAAG, R. R. Full scale experience with tannery water management: an integrated approach. **Water Science and Technology**, v.39, n.5, p. 169-176, 1999.

WIRTZ, R. A.; DAGUE, R. R. Laboratory studies on enhancement of granulation in the anaerobic sequencing batch reactor. **Water Science Technology**, v. 36, p. 279-286, 1997.

XIE, D.; DIXON, R. A. Proanthocyanidin biosynthesis - still more questions than answers? **Phytochemistry**, v. 66, p. 2127-2144, 2005.

YAMADA, H.; ADACHI, O.; WATANABE, M.; SATO, N. Studies of fungal tannase. Part I. Formation, purification and catalytic properties of tannase of *Aspergillus flavus*. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 32, n. 9, p. 1070-1078, 1968.

YAMAGUCHI, M. M. **Seleção, produção e caracterização da enzima quitinase**. 2003. 83 f. Tese (Doutorado em Engenharia de alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

ZAIA, M. **Desenvolvimento de reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF) para tratamento de águas residuárias**. 1996. 157p. 157 f. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. São Carlos.

ZENAITIS, M. G.; SANDHU, H.; DUFF, S. J. B. Combined biological and ozone treatment of log yard run-off. **Water Research**, v. 36, p. 2053-2061, 2002.



---

***Agroindústria Tropical***

Ministério da  
Agricultura, Pecuária  
e Abastecimento

GOVERNO FEDERAL  
**BRASIL**  
PAÍS RICO É PAÍS SEM POBREZA